

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

LUIZ EDUARDO DA SILVA DOS SANTOS

MINIMIZAÇÃO DE EMISSÕES DE ÓXIDOS DE NITROGÊNIO ( $\text{NO}_x$ ) PELO USO  
DE FOTOCATÁLISE E BIOFIXAÇÃO POR MICROALGAS



CURITIBA

2018

LUIZ EDUARDO DA SILVA DOS SANTOS

MINIMIZAÇÃO DE EMISSÕES DE ÓXIDOS DE NITROGÊNIO (NO<sub>x</sub>) PELO USO  
DE FOTOCATÁLISE E BIOFIXAÇÃO POR MICROALGAS

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Meio Ambiente Urbano e Industrial, Departamento de Engenharia Química, Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná em parceria com o SENAI-PR e a *Universität Stuttgart*, Alemanha, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais.

Orientador: Profº. MSc. Mauricy Kawano

Coorientadora: Profª. Dra. Regina Maria Matos Jorge

CURITIBA

2018

S237m Santos, Luiz Eduardo da Silva dos

Minimização de emissões de óxidos de nitrogênio (nox) pelo uso de fotocatalise e biofixação por microalgas [recurso eletrônico] / Luiz Eduardo da Silva dos Santos – Curitiba, 2018.

Dissertação (mestrado) - Departamento de Engenharia Química, Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná em parceria com o SENAI-PR e a Universität Stuttgart, Alemanha

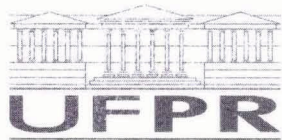
Orientador: Prof. MSc. Mauricy Kawano

Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Regina Maria Matos Jorge

1. Ciências ambientais. 2. Microalgas. 3. Óxidos de nitrogênio. I. Universidade Federal do Paraná. II. Kawano, Mauricy. III. Jorge, Regina Maria Matos. IV. Título.

CDD 333.7

---



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SETOR SETOR DE TECNOLOGIA  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MEIO AMBIENTE  
URBANO E INDUSTRIAL

## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em MEIO AMBIENTE URBANO E INDUSTRIAL da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado de **LUIZ EDUARDO DA SILVA DOS SANTOS** intitulada: **MINIMIZAÇÃO DE EMISSÕES DE ÓXIDOS DE NITROGÊNIO (NOX) PELO USO DE FOTOCATÁLISE E BIOFIXAÇÃO POR MICROALGAS**, após terem inquirido o aluno e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua aprovação no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

Curitiba, 03 de Dezembro de 2018.

MAURICY KAWANO

Presidente da Banca Examinadora (SENAI-PR)

PEDRO RAMOS DA COSTA NETO

Avaliador Externo (UTFPR)

ARION ZANDONÁ FILHO

Avaliador Interno (UFPR)

Dedico este trabalho a todos  
aqueles que prezam pela educação e  
pesquisa em nosso país.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador Prof<sup>o</sup> Msc. Mauricy Kawano e a minha coorientadora Prof<sup>a</sup> Dra. Regina Maria Matos Jorge pelas orientações, apoio e confiança.

A Universidade Federal do Paraná, Universidade de Stuttgart e ao Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial – SENAI, pela oportunidade de fazer este curso.

Ao *Deutscher Akademischer Austausch Dienst* – DAAD pela oportunidade de participar do Curso de Extensão Internacional na Alemanha, assim como a todos os professores que nos conduziram nas visitas técnicas e outras atividades na *Universität Stuttgart* na Alemanha.

Ao Instituto de Tecnologia para o Desenvolvimento – Institutos Lactec e a Usina Elétrica a Gás de Araucária – UEGA pelo incentivo e financiamento da pesquisa através do projeto de P&D Aneel nº 0539-005/2015.

Aos professores participantes da banca examinadora, pelo interesse e disponibilidade.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação.

## RESUMO

O uso de microalgas para biofixação de emissões poluentes tem sido objeto de estudo de vários pesquisadores, principalmente em função da alta capacidade fotossintética que estas possuem, contribuindo para fixação de CO<sub>2</sub>. Porém, grande parte das emissões provenientes da queima de combustíveis fósseis possuem, além de CO<sub>2</sub>, outros poluentes como NO<sub>x</sub>, SO<sub>x</sub> e materiais particulados. Nesta pesquisa, a eficiência de biofixação de óxidos de nitrogênio (NO<sub>x</sub>) foi testada empregando cultivos de microalgas em fotobiorreatores (FBR's) utilizando uma corrente gasosa simulando concentrações encontradas no lançamento de gases de combustão para a atmosfera. Contudo, sabe-se que o NO representa cerca de 95% das emissões de NO<sub>x</sub> provenientes de processos que fazem a queima de combustíveis e que este mesmo NO é uma fonte pobre em nitrogênio para o cultivo de microalgas devido a sua baixa solubilidade em meio aquoso. Com isto em mente, através dos experimentos realizados, foi apresentado uma nova estratégia para aproveitamento do NO como matéria-prima para a produção de microalgas combinando uma unidade de pré-tratamento fotocatalítico com os FBR's de microalgas. O acréscimo desta etapa propicia a transformação de NO em NO<sub>2</sub>, aumentando a absorção de NO<sub>x</sub> no meio de cultivo. Os experimentos foram divididos em 5 testes: T<sub>0</sub> – seleção de uma espécie de microalga adequada aos testes de eficiência de biofixação de NO<sub>x</sub>; T<sub>1</sub> – tratamento controle com injeção de ar sintético e CO<sub>2</sub> a 5%; T<sub>2</sub> – tratamento fazendo uso de NO como fonte de nitrogênio; T<sub>3</sub> – tratamento fazendo uso de um pré-tratamento fotocatalítico para oxidar NO a NO<sub>2</sub>; T<sub>4</sub> – tratamento fazendo uso de NO<sub>2</sub> como fonte de nitrogênio. Os testes de eficiência de biofixação de NO<sub>x</sub> com a espécie selecionada (*Chlorella vulgaris*) indicaram uma melhora na remoção deste poluente da corrente gasosa quando foi feito o uso de pré-tratamento fotocatalítico. Neste tratamento, o percentual de remoção alcançou os 68%, enquanto os testes com injeção direta de NO aos FBR's apresentaram uma remoção que não ultrapossou os 14%. Os resultados também demonstraram que a produtividade de biomassa não foi significativamente afetada. As diferenças encontradas em relação a um cultivo convencional, deram-se principalmente em termos de crescimento celular. Em todos os testes que se fez o uso de injeção contínua de NO<sub>x</sub> como única fonte de nitrogênio, o desenvolvimento celular foi inibido quando comparado aos testes controle.

Palavras-chave: Microalgas. Biofixação. Emissões Atmosféricas. Óxidos de Nitrogênio.

## ABSTRACT

The use of microalgae for the biofixation of pollutant emissions has been object of study of several researchers, mainly due to their high photosynthetic capacity, which contributes to CO<sub>2</sub> fixation. However, in most emissions from the burning of fossil fuels there are other pollutants, in addition to CO<sub>2</sub>, such as NO<sub>x</sub>, SO<sub>x</sub> and particulates. In this research, the efficiency of nitrogen oxides (NO<sub>x</sub>) biofixation was tested by growing microalgae cultures in photobioreactors (PBR's) and by applying a gas stream that simulated the concentrations found in the release of combustion gases into the atmosphere. However, it is known that NO represents about 95% of the NO<sub>x</sub> emissions from the processes that burn fuels and that NO is a poor source of nitrogen for the growing of microalgae due to its low solubility in aqueous medium. With this in mind, through the experiments performed, a new strategy for the improvement of NO use as raw material for microalgae production was presented, by combining a photocatalytic pre-treatment unit with microalgae PBR's. The addition of this step provides the transformation of NO into NO<sub>2</sub>, increasing the NO<sub>x</sub> absorption in the cultivation medium. The experiments were divided in 5 tests: T<sub>0</sub> – selection of one microalgae species suitable for the NO<sub>x</sub> biofixation efficiency tests; T<sub>1</sub> – the control treatment with synthetic air injection and CO<sub>2</sub> at 5%; T<sub>2</sub> – treatment using NO as a source of nitrogen; T<sub>3</sub> – treatment using a photocatalytic pre-treatment to oxidize NO into NO<sub>2</sub>; T<sub>4</sub> – treatment using NO<sub>2</sub> as a source of nitrogen. The NO<sub>x</sub> biofixation efficiency tests with the selected species (*Chlorella vulgaris*) indicated no improvement in the removal of this pollutant from the gas stream when the photocatalytic pre-treatment was applied. In this treatment, the percentage of removal reached 68%, while the tests with direct injection of NO into the PBR's showed a removal that did not exceed 14%. The results also showed that the biomass productivity was not significantly affected. The main differences found in relation to a conventional culture were on cell growth. The cell growth was inhibited when compared to the control tests in all the tests made using continuous injection of NO<sub>x</sub> as the only source of nitrogen.

Key-words: Microalgae. Biofixation. Atmospheric emissions. Nitrogen oxides.



## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - MICROALGA <i>Scenedesmus</i> .....	22
FIGURA 2 - MICROALGA <i>Chlorella</i> .....	23
FIGURA 3 - MICROALGA <i>Haematococcus pluvialis</i> .....	25
FIGURA 4 - CICLO DO CARBONO E SUAS RELAÇÕES COM O CICLO DO OXIGÊNIO.....	28
FIGURA 5 - GRÁFICO DE CRESCIMENTO DE MICROALGAS. 1 - FASE LAG; 2 - FASE EXPONENCIAL; 3 - FASE DE DIMINUIÇÃO DO CRESCIMENTO RELATIVO; 4 - FASE ESTACIONÁRIA; 5 - FASE DE MORTE DA CULTURA. ....	35
FIGURA 6 - MODELO PROPOSTO PARA A CAPTAÇÃO E ARMAZENAMENTO DE NITROGÊNIO POR MICROALGAS E CIANOBACTÉRIAS. ....	41
FIGURA 7 - DIMENSÕES DA CAIXA QUE COMPORTOU OS LEITOS DE FOTOCATÁLISE (EM MILÍMETROS). ....	48
FIGURA 8 - VISTAS FRONTAL E LATERAL DO REATOR DE FOTOCATÁLISE....	48
FIGURA 9 - ETAPAS DE MONTAGEM DO REATOR DE FOTOCATÁLISE. ....	49
FIGURA 10 - ETAPAS DE PREPARO DO CATALISADOR SUPORTADO EM MICROESFERAS.....	52
FIGURA 11 - PLACAS DE PETRI CONTENDO AS CEPAS DE MICROALGAS: (1) <i>Chlorella vulgaris</i> ; (2) <i>Haematococcus pluvialis</i> ; (3) <i>Scenedesmus</i> <i>subspicatus</i> . ....	54
FIGURA 12 - SISTEMA DE CULTIVO DE MICROALGAS PARA O TESTE PRELIMINAR ( $T_0$ ). ....	55
FIGURA 13 - DIAGRAMA ESQUEMÁTICO TESTE $T_0$ . ....	56
FIGURA 14 - DESENHO ESQUEMÁTICO DA CÂMARA DE NEUBAUER.....	58
FIGURA 15 - FLUXOGRAMA DE PROCESSO (TESTE $T_1$ ).....	61
FIGURA 16 - FLUXOGRAMA DE PROCESSO (TESTE $T_2$ ).....	62
FIGURA 17 - FLUXOGRAMA DE PROCESSO (TESTE $T_3$ ).....	63
FIGURA 18 - FLUXOGRAMA DE PROCESSO (TESTE $T_4$ ).....	64
FIGURA 19 – ANÁLISE DE ABSORBÂNCIA (670 NM): (A) <i>C. vulgaris</i> ; (B) <i>H.</i> <i>pluvialis</i> ; (C) <i>S. subspicatus</i> ; E (D) COMPARATIVO ENTRE AS TRÊS ESPÉCIES (TESTE $T_0$ ). ....	68

FIGURA 20 - CRESCIMENTO CELULAR: (A) <i>C. vulgaris</i> ; (B) <i>H. pluvialis</i> ; (C) <i>S. subspicatus</i> ; E (D) COMPARATIVO ENTRE AS TRÊS ESPÉCIES (TESTE T <sub>0</sub> ).....	69
FIGURA 21 - VARIAÇÃO DO pH NOS CULTIVOS (TESTE T <sub>0</sub> ). ....	70
FIGURA 22 – PRODUÇÃO DE BIOMASSA SECA: (A) <i>C. vulgaris</i> ; (B) <i>H. pluvialis</i> ; (C) <i>S. subspicatus</i> ; E (D) COMPARATIVO ENTRE AS TRÊS ESPÉCIES (TESTE T <sub>0</sub> ).....	72
FIGURA 23 - CURVA DE CRESCIMENTO - TESTE T <sub>1</sub> (CONTROLE) .....	74
FIGURA 24 - ANÁLISE DE BIOMASSA SECA - TESTE T <sub>1</sub> (CONTROLE).....	75
FIGURA 25 - ANÁLISE DE ABSORBÂNCIA - TESTE T <sub>1</sub> (CONTROLE) .....	76
FIGURA 26 - VARIAÇÃO DO pH - TESTE T <sub>1</sub> (CONTROLE).....	77
FIGURA 27 - BIOFIXAÇÃO DE ÓXIDOS DE NITROGÊNIO ACUMULADO AO LONGO DOS 15 DIAS PARA OS TESTES T <sub>2</sub> , T <sub>3</sub> E T <sub>4</sub> .....	81
FIGURA 28 - BIOFIXAÇÃO DE ÓXIDOS DE NITROGÊNIO DIÁRIO PARA OS 15 DIAS DOS TESTES T <sub>2</sub> , T <sub>3</sub> E T <sub>4</sub> .....	82
FIGURA 29 - CRESCIMENTO CELULAR PARA OS TESTES T <sub>1</sub> , T <sub>2</sub> , T <sub>3</sub> E T <sub>4</sub> .....	83
FIGURA 30 - ANÁLISE DE BIOMASSA SECA - TESTES T <sub>1</sub> , T <sub>2</sub> , T <sub>3</sub> E T <sub>4</sub> .....	84
FIGURA 31 - ANÁLISE DE ABSORBÂNCIA (670 nm) - TESTES T <sub>1</sub> , T <sub>2</sub> , T <sub>3</sub> E T <sub>4</sub> .....	85
FIGURA 32 - TESTES T <sub>1</sub> (MAIS CLARO) E T <sub>4</sub> (MAIS ESCURO) COM 10 DIAS DE EXPERIMENTO .....	86
FIGURA 33 - VARIAÇÃO DO PH – TESTES T <sub>1</sub> , T <sub>2</sub> , T <sub>3</sub> E T <sub>4</sub> .....	87

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – SISTEMÁTICA DE GÊNEROS DE ALGAS AZUIS MAIS CULTIVADOS .....	21
TABELA 2 - SISTEMÁTICA DE GÊNEROS DE ALGAS VERDES MAIS CULTIVADOS .....	21
TABELA 3 - ESPÉCIES DE MICROALGAS ESTUDADAS PARA A BIOFIXAÇÃO DE CO <sub>2</sub> .....	39
TABELA 4 - FOTOCATALISADORES A BASE DE TiO <sub>2</sub> PARA A OXIDAÇÃO FOTOCATALÍTICA DE POLUENTES INORGÂNICOS.....	45
TABELA 5 - CONDIÇÕES INICIAIS PARA OS TESTES REALIZADOS .....	53
TABELA 6 - CONCENTRAÇÕES DOS COMPONENTES DO MEIO BBM.....	54
TABELA 7 – VALORES MÉDIOS DE pH PARA OS FOTOBIORREATORES DE <i>C. vulgaris</i> , <i>H. pluvialis</i> E <i>S. subspicatus</i> DURANTE OS 15 DIAS DE CULTIVO (TESTE T <sub>0</sub> ). .....	71
TABELA 8 – PRODUTIVIDADE DE BIOMASSA POR <i>C. vulgaris</i> , <i>H. pluvialis</i> E <i>S. subspicatus</i> ENTRE O PRIMEIRO E O ÚLTIMO DIA DE EXPERIMENTO (TESTE T <sub>0</sub> ). .....	72
TABELA 9 – CONCENTRAÇÕES MÉDIAS DE NO <sub>x</sub> NA ENTRADA E SAÍDA DOS FBR'S .....	73
TABELA 10 - PRODUTIVIDADE MÉDIA A CADA 2 DIAS - TESTE T <sub>1</sub> .....	75
TABELA 11 - DADOS DE BIOFIXAÇÃO DE NO <sub>x</sub> PARA OS TESTES T <sub>2</sub> , T <sub>3</sub> E T <sub>4</sub> ...	78
TABELA 12 - CONVERSÃO DE NO NA ETAPA DE FOTOCATÁLISE .....	79
TABELA 13 - PRODUTIVIDADE MÉDIA A CADA 2 DIAS - TESTE T <sub>1</sub> , T <sub>2</sub> , T <sub>3</sub> E T <sub>4</sub> ..	84
TABELA 14 – VALORES MÉDIOS DE pH PARA OS TESTES T <sub>1</sub> , T <sub>2</sub> , T <sub>3</sub> E T <sub>4</sub> .....	87

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADP	- Adenosina difosfato
ATP	- Adenosina Trifosfato
BBM	- Bold's Basal Medium
C <sub>x</sub> H <sub>y</sub>	- Hidrocarbonetos
CO <sub>2</sub>	- Dióxido de Carbono
CV	- <i>Chlorella vulgaris</i>
CdS	- Sulfeto de Cádmio
DNA	- Ácido desoxirribonucleico
FBR's	- Fotobiorreatores
HP	- <i>Haematococcus pluvialis</i>
HNO <sub>2</sub>	- Ácido Nitroso
HNO <sub>3</sub>	- Ácido Nítrico
LED	- <i>Light Emitting Diode</i>
MP	- Material particulado
NADP	- Fosfato de dinucleotídeo de adenina e nicotinamida
NaNO <sub>3</sub>	- Nitrato de Sódio
NO <sub>x</sub>	- Óxidos de Nitrogênio
NO	- Monóxido de Nitrogênio
NO <sub>2</sub>	- Dióxido de Nitrogênio
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	- Íon Nitrito
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	- Íon Nitrato
N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	- Trióxido de dinitrogênio
N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	- Tetróxido de dinitrogênio
PCO	- Processo de oxidação catalítica
pH	- Potencial hidrogeniônico
PSII	- Fotossistema II
RNA	- Ácido ribunocleico
SO <sub>x</sub>	- Óxidos de Enxofre
SS	- <i>Scenedesmus subspicatus</i>
TiO <sub>2</sub>	- Dióxido de Titânio
UFSCar	- Universidade Federal de São Carlos

VOC's	- Compostos Orgânicos Voláteis
WO <sub>3</sub>	- Trióxido de Tungstênio
ZnS	- Sulfeto de Zinco
ZnO	- Óxido de Zinco

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>15</b>
1.1	JUSTIFICATIVA.....	15
1.2	OBJETIVOS .....	16
1.2.1	Objetivo Geral.....	16
1.2.2	Objetivos Específicos .....	16
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>18</b>
2.1	MICROALGAS.....	18
2.1.1	Classificação .....	19
2.1.2	Gêneros de microalgas.....	21
2.1.3	Interação de microalgas e elementos limitantes .....	25
2.2	CULTIVO DE MICROALGAS .....	29
2.2.1	Condições de cultivo.....	29
2.2.2	Crescimento microalgal .....	34
2.3	BIOFIXAÇÃO DE EMISSÕES .....	37
2.3.1	Dióxido de carbono (CO <sub>2</sub> ).....	38
2.3.2	Óxido de nitrogênio (NO <sub>x</sub> ).....	39
2.4	FOTOCATÁLISE .....	42
2.4.1	Processo de fotocatálise para tratamento de poluentes gasosos.....	43
2.4.2	Catalisadores utilizados .....	44
2.4.3	Métodos de preparo de fotocatalisadores.....	45
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>47</b>
3.1	MONTAGEM DO REATOR DE FOTOCATÁLISE .....	47
3.1.1	Preparo do catalisador.....	50
3.2	CONFIGURAÇÃO E OPERAÇÃO DOS FOTOBIORREATORES (TESTES T <sub>0</sub> , T <sub>1</sub> , T <sub>2</sub> , T <sub>3</sub> E T <sub>4</sub> ) .....	52
3.2.1	Teste preliminar (T <sub>0</sub> ) – seleção da espécie de microalga .....	53
3.2.2	Testes para análise da eficiência de biofixação de NO <sub>x</sub> - T <sub>1</sub> , T <sub>2</sub> , T <sub>3</sub> e T <sub>4</sub> .....	60
3.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	66
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>67</b>
4.1	TESTE T <sub>0</sub> - SELEÇÃO DA ESPÉCIE DE MICROALGA.....	67
4.1.1	Absorbância e Crescimento Celular .....	67
4.1.2	pH do meio .....	70

4.1.3	Biomassa seca .....	71
4.2	TESTES T <sub>1</sub> , T <sub>2</sub> , T <sub>3</sub> E T <sub>4</sub> – ANÁLISE DA EFICIÊNCIA DE BIOFIXAÇÃO DE NO <sub>x</sub> .....	73
4.2.1	Teste controle (T <sub>1</sub> ) .....	73
4.2.2	Testes da análise de biofixação de NO <sub>x</sub> (T <sub>2</sub> , T <sub>3</sub> e T <sub>4</sub> ) .....	77
<b>5</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>89</b>
5.1	RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	90
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>92</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A fixação de emissões gasosas utilizando cultivos de microalgas é um processo complexo, no qual há a interação de diversos fatores físico-químicos, como: a concentração dos gases, a presença de poluentes no gás, a densidade inicial de inoculação, a temperatura de cultivo, a intensidade luminosa, o fotoperíodo escolhido, os nutrientes, o pH e a forma de cultivo. Além destes parâmetros de cultivo, a espécie de microalga escolhida é fundamental e influencia diretamente a capacidade de biofixação e a produção de biomassa.

Neste contexto, há interesse no uso de microalgas para fixar, além de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) que é um composto fundamental para o processo de fotossíntese, óxidos de nitrogênio ( $\text{NO}_x$ ) como uma possível alternativa aos processos convencionais de captura e tratamento de emissões poluentes. As potenciais vantagens da utilização de microalgas para a captura destes poluentes provenientes dos gases de combustão são: a biofixação não é comprometida por variações na concentração de  $\text{CO}_2$  nos gases de exaustão; os óxidos de nitrogênio ( $\text{NO}_x$ ) podem ser utilizados como fonte de nutrientes para microalgas; e o ciclo renovável dos microrganismos causa impactos mínimos sobre o meio ambiente quando comparado com outras tecnologias de fixação. No entanto, ainda existem diversas barreiras para implantação desta abordagem para biofixação de emissões, e uma dessas barreiras é o entendimento das interações das microalgas com os poluentes presentes nas emissões atmosféricas (EYNDE et al., 2016).

É com o objetivo de transpor estas barreiras que se insere a presente pesquisa. Assim, esta dissertação tem o propósito de fundamentar as atividades e as etapas iniciais para o entendimento do processo de biofixação de óxidos de nitrogênio utilizando microalgas.

### 1.1 JUSTIFICATIVA

O crescimento acelerado dos processos industriais e das grandes metrópoles, aliado à utilização de práticas incorretas do uso do solo e das florestas ocasionaram um aumento significativo na emissão de gases como  $\text{CO}_2$  e  $\text{NO}_x$  na atmosfera. As chamadas fontes fixas são grandes emissoras destes gases e, portanto, possuem diversas restrições perante órgãos ambientais para sua instalação e/ou ampliação. A



Resolução CONAMA nº 491/18 de 19/11/2018 (BRASIL, 2018) prevê padrões ainda mais restritivos de qualidade do ar para os próximos anos. Assim, cada vez mais têm se buscado métodos mais eficientes de tratamento destas emissões, a fim de se diminuir o impacto ambiental destes empreendimentos.

Dentre as técnicas disponíveis para o tratamento de emissões, os métodos biológicos têm chamado a atenção de pesquisadores do mundo inteiro, sendo as microalgas um dos mais estudados. Além de sua elevada capacidade de duplicação e de fixação do CO<sub>2</sub>, sua biomassa residual pode ser aproveitada na obtenção de diferentes compostos de interesse industrial.

A utilização em larga escala destes microrganismos ainda necessita de diversos estudos, uma vez que grande parte dos gêneros são sensíveis a compostos como NO<sub>x</sub>, presentes nas emissões provenientes de processos de combustão (YEN, 2015). Para tanto, faz-se necessário o entendimento a fundo da influência de todos os gases emitidos nestas fontes, bem como o estudo de gêneros de microalgas que sejam naturais de biosistemas próximos das fontes emissoras de gases poluentes.

Ainda, os custos de produção e de operação dos sistemas de cultivo de microalgas são elevados. Assim, a combinação da produção de microalgas simultaneamente à biofixação de poluentes presentes nas emissões se apresenta como uma alternativa possivelmente viável para o crescimento desses organismos, reduzindo custos e abatendo a quantidade de poluentes emitidos à atmosfera, tratando desta forma, dos passivos ambientais da empresa.

## 1.2 OBJETIVOS

### 1.2.1 Objetivo Geral

Minimizar as emissões de óxidos de nitrogênio (NO<sub>x</sub>) utilizando um sistema associado de fotocatalise e biofixação por microalgas.

### 1.2.2 Objetivos Específicos

Os objetivos específicos da pesquisa são:

- a) Cultivar espécies de microalgas em laboratório e selecionar a espécie mais adequada para os testes de biofixação de óxidos de nitrogênio;
- b) Construir um reator de fotocatálise para o pré-tratamento do óxido de nitrogênio (NO) nos testes de injeção de gás em cultivo de microalgas;
- c) Preparar o catalisador para a etapa de fotocatálise;
- d) Montar sistema de controle e diluição adequado para obtenção das concentrações de trabalho;
- e) Avaliar a eficiência de biofixação de NO<sub>x</sub> pela espécie de microalga selecionada.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

Os tópicos seguintes apresentam o contexto necessário para a compreensão dos principais temas abordados nesta pesquisa.

### 2.1 MICROALGAS

Presentes em praticamente todos os ecossistemas existentes na Terra, as microalgas estão entre as formas mais antigas de vida do planeta. São responsáveis pela produção de 60% de todo o oxigênio presente na biosfera, sendo assim, de extrema importância para o equilíbrio e manutenção da vida em todo o planeta (RICHMOND, 2008).

As microalgas podem ser classificadas como microrganismos autotróficos que, de forma análoga às plantas terrestres, realizam fotossíntese. Elas são encontradas na natureza em sua forma unicelular ou em colônias multicelulares (SONG et al., 2008), flageladas ou não, além das formas filamentosas planctônicas ou fixas a um substrato. Devido a sua estrutura simples, as microalgas podem facilmente converter a energia solar em energia química (RICHMOND, 2008). O crescimento desses microrganismos chega a ser 100 vezes mais rápido do que as plantas terrestres, podendo dobrar sua biomassa em menos de um dia (TREDICI, 2010). Pelo fato de ser encontrada uma grande diversidade de espécies, as microalgas se caracterizam como fonte ilimitada de bioprodutos como por exemplo lipídeos, proteínas e pigmentos (NORTON et al., 1996; PULZ e GROSS, 2004).

Durante as últimas décadas, as pesquisas relacionadas às microalgas se desenvolveram rapidamente por todo o mundo. Projetos iniciados na Alemanha foram estendidos aos Estados Unidos, Japão, Israel e Itália (BURLEW, 1953). Na década de 50, a ideia de utilizar microalgas para tratamento de efluentes começou a ser explorada. Já em 1960, o foco das pesquisas se voltou para o desenvolvimento de alimentos para astronautas, levando a produção de *Chlorella* no Japão e Taiwan ao sucesso (SOONG, 1980). Em 1970, a produção de biomassa de microalgas começou a ser estudada como fonte de fertilizantes e biocombustíveis. Na década de 80, uma nova tendência surgiu, levando as microalgas ao patamar de fonte ilimitada de produtos químicos. Atualmente, diversos grupos espalhados pelo globo vêm desenvolvendo trabalhos relacionados as mais diferentes aplicações das microalgas,

demonstrando um interesse crescente da comunidade científica neste campo de pesquisa.

A versatilidade dos sistemas de produção de microalgas torna possível a integração de diversas aplicações dentro de um mesmo processo, como por exemplo, o tratamento de efluentes agroindustriais e o desenvolvimento de rações. As microalgas contêm clorofila que pode ser extraída e utilizada para fins alimentares e cosméticos (SPOLAORE et al., 2006). Elas também podem ser usadas nas indústrias farmacêuticas, como algumas espécies de microalgas que produzem compostos bioativos, tais como antioxidantes e antibióticos (GARCIA-CASAL et al., 2009). Além disso, as microalgas são usadas como suplementos nutricionais para o consumo humano, devido à presença de proteínas, vitaminas e polissacarídeos em sua biomassa (CARBALLO-CÁRDENAS et al., 2003). O resíduo da biomassa pode ser convertido em diferentes tipos de biocombustíveis, como biometano (VERGARA-FERNÁNDEZ et al., 2008), bioetanol (TSUKAHARA e SAWAYAMA, 2005), e biohidrogênio (HANKAMER, 2007). Algumas espécies de microalgas contêm altos níveis de lipídeos que podem ser extraídos e convertidos em biodiesel (CHISTI, 2007).

Contudo, apesar dos grandes esforços dedicados à otimização dos processos de cultivo de microalgas, o desenvolvimento com baixo custo e alta eficiência ainda é esperado principalmente quando se trata do custo de produção. Dentre os gêneros de microalgas cultivadas para fins comerciais podem ser citadas: *Chlorella beijerinck*, *Arthrospira stizenberger* e *Spirulina turpin* utilizadas como nutracêuticos; *Dunaliella teodoresco* como fonte de caroteno; *Haematococcus sanguineus* para produção comercial de astaxantina e *Scenedesmus meyen* para tratamento de efluentes e biorremediação (DENER et al., 2006; AZEREDO, 2012).

### 2.1.1 Classificação

Apesar de comumente utilizado para designar algas microscópicas, o termo “microalga” refere-se a um grupo biológico, não tendo valor ou representatividade taxonômica (SCHMITZ et al., 2012). Este grupo inclui microrganismos talófitos (não apresentam corpo dividido em raiz, caule e folhas) e protistas, cujo pigmento fotossintético principal é a clorofila *a* e cujas estruturas reprodutivas não se encontram envoltas por células estéreis (HOEK et al., 1995; BICUDO e MENEZES, 2006; DENER et al., 2006). De qualquer forma, a sistemática do grupo é complexa e sua

caracterização deve considerar uma série de informações morfológicas, fisiológicas e filogenéticas.

As microalgas mais utilizadas para cultivo estão distribuídas basicamente em dois grupos taxonômicos: as cianobactérias e as clorófitas.

O grupo das cianobactérias, também conhecidas como algas azuis, pertence ao Reino Monera, que inclui também as bactérias. Em sistemas de classificação mais recentes, o mesmo é designado como Eubacteria. Neste reino estão os organismos designados como procariontes. Caracterizam-se por não apresentar núcleo organizado, com envoltório nuclear. Também não apresentam cromossomos complexos como os dos organismos eucariontes, não apresentam retículo endoplasmático, mitocôndrias, plastos (nem cloroplastos), bem como não apresentam flagelos. A parede celular, presente em quase todos os organismos do grupo, é rígida. Numa estrutura bastante incomum, estão incorporados nesta estrutura os aminoácidos, que servem como ligações entre unidades de polissacarídeos, evidenciando a ligação estreita entre as cianobactérias e as bactérias. Também é importante frisar que nenhum procarionte é verdadeiramente pluricelular. No caso das algas azuis, podem ser formados arranjos tipicamente unicelulares, coloniais ou filamentosos, no entanto, nos dois últimos casos, as células só permanecem unidas por que suas paredes celulares deixaram de se separar completamente depois da divisão celular, ficando mantidas pela presença de bainha mucilaginosa (CURTIS, 1977).

Ainda caracterizando o grupo das cianobactérias, estas apresentam clorofila *a*, bem como ficobilinas como pigmentos acessórios (ficocianinas e ficoeritrinas), além de carotenóides. Não apresentam cloroplastos, somente tilacóides dispostos, normalmente, na periferia de suas células (RAVEN et al., 2001). Sua parede celular não é celulósica, mas normalmente composta por peptidoglicanos (HOICZYK e HANSEL, 2000).

No sistema proposto por Van den Hoek et al. (1995), a divisão Cyanophyta (também conhecida como Cyanobacteria) é composta por apenas uma classe, Cyanophyceae (Nostocophyceae). Com relação à classificação taxonômica dos gêneros mais cultivados, esta pode ser observada na TABELA 1.

TABELA 1 – SISTEMÁTICA DE GÊNEROS DE ALGAS AZUIS MAIS CULTIVADOS

Categoria taxonômica	Designação	Designação
Reino	Eubacteria	Eubacteria
Divisão (Filo)	Cyanophyta (Cyanobacteria)	Cyanophyta (Cyanobacteria)
Classe	Cyanophyceae	Cyanophyceae
Ordem	Spirulinales	Oscillatoriales
Família	Spirulinaceae	Microcoleaceae
Gênero	Spirulina	Arthrospira

FONTE: GUIRY (2018)

As clorofíceas, também conhecidas como algas verdes, pertencem ao Reino Plantae, em sistemas de classificação anteriores. Em sistemas mais recentes, estão incluídas, juntamente com as plantas superiores, no grupo Archaeplastida. São organismos eucariontes, que apresentam parede celular celulósica, clorofila *a* e *b*, bem como carotenos e xantofilas como pigmentos acessórios. Os talos são dos mais variados tipos, partindo de formas unicelulares, coloniais e filamentosas, aos complexos talos macroscópicos sifonáceos e parenquimatosos. No grupo das clorofíceas estão, possivelmente, os ancestrais das plantas terrestres (BAUDAUF, 2008). A posição taxonômica dos principais gêneros de algas verdes cultivados está listada na TABELA 2.

TABELA 2 - SISTEMÁTICA DE GÊNEROS DE ALGAS VERDES MAIS CULTIVADOS

Categoria Taxonômica	Designação	Designação	Designação	Designação
Reino	<i>Plantae</i>	<i>Plantae</i>	<i>Plantae</i>	<i>Plantae</i>
Divisão (Filo)	<i>Chlorophyta</i>	<i>Chlorophyta</i>	<i>Chlorophyta</i>	<i>Chlorophyta</i>
Classe	<i>Chlorophyceae</i>	<i>Trebouxiophyceae</i>	<i>Chlorophyceae</i>	<i>Chlorophyceae</i>
Ordem	<i>Sphaeropleales</i>	<i>Chlorellales</i>	<i>Chlamydomonadales</i>	<i>Chlamydomonadales</i>
Família	<i>Scenedesmiaceae</i>	<i>Chlorellaceae</i>	<i>Haematococcaceae</i>	<i>Dunaliellaceae</i>
Gênero	<i>Scenedesmus</i>	<i>Chlorella</i>	<i>Haematococcus</i>	<i>Dunaliella</i>

FONTE: GUIRY (2018)

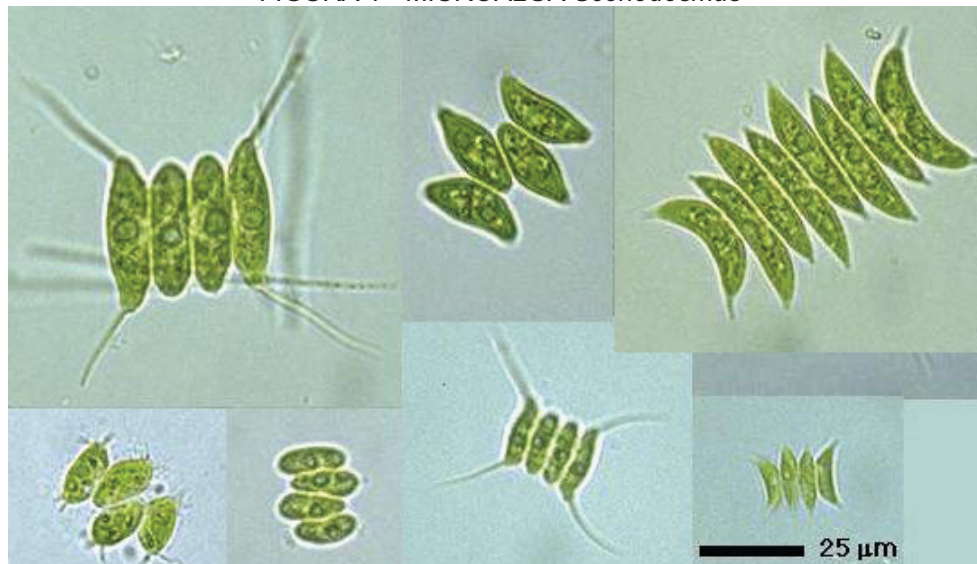
### 2.1.2 Gêneros de microalgas

#### a) *Scenedesmus*

O gênero *Scenedesmus* (FIGURA 1) caracteriza-se por apresentar indivíduos coloniais formando cenóbios (colônias imóveis, com número fixo de células) de 2, 4, 8 ou 16, e raramente, 32 células por colônia. As colônias, formadas por células elipsóides, ovóides, fusiformes ou lunadas, são planas, sendo a disposição mais comum a de células em linha (BICUDO e MENEZES, 2006). Em termos de composição celular, assim como as demais clorófitas, apresentam clorofila *a* e *b*

encerrada em cloroplastos de dupla membrana, e armazenam energia na forma de amido.

FIGURA 1 - MICROALGA *Scenedesmus*



FONTE: ILLUSTRATIONS OF THE JAPANESE FRESH-WATER ALGAE (1977).

Trata-se de um gênero cosmopolita, sendo seus indivíduos extremamente comuns em qualquer coleta de água doce que seja realizada, seja em ambientes ricos ou pobres em nutrientes (BICUDO e MENEZES, 2006). São mais frequentes em águas continentais eutróficas, sendo raramente encontradas em águas salobras. Seu crescimento ótimo ocorre em águas levemente ácidas, mas de baixa salinidade (GUIRY e GUIRY, 2018). Esta espécie tem demonstrado extraordinária vitalidade nas águas residuais urbanas, registrando taxas de crescimento semelhantes às relatadas por meio sintético completo. Tolerar diferentes níveis de temperatura e de pH, tornando-se versátil para a purificação de águas residuais (KESSLER, 1991). A temperatura ótima de crescimento está entre 28°C e 30°C, sendo que algumas espécies se desenvolvem melhor acima de 36°C (GUIRY e GUIRY, 2018).

Dentre as microalgas, este gênero apresenta diversas características desejáveis para a combinação eficiente e econômica da fixação de CO<sub>2</sub>, tratamento de efluentes e síntese de lipídeos para a produção de biocombustíveis (TANG et al., 2011).

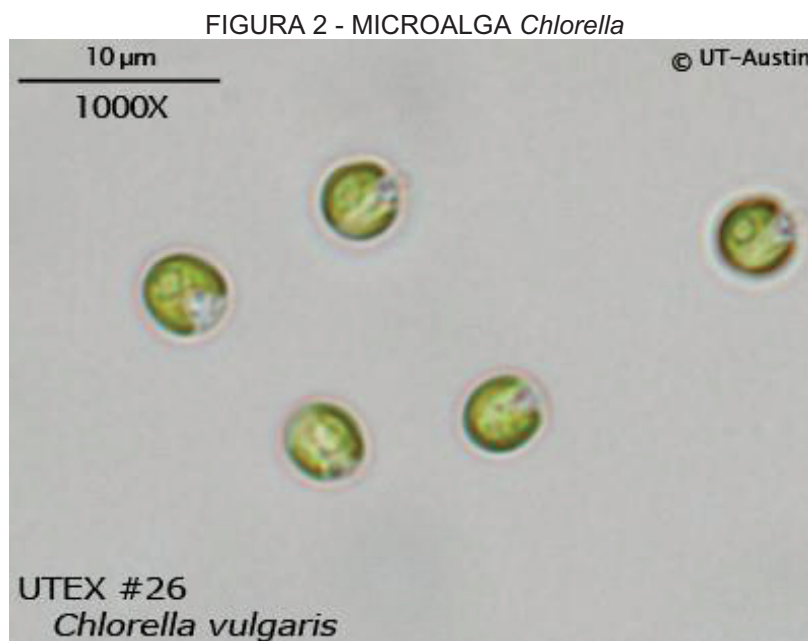
As espécies conhecidamente utilizadas para produção de proteínas e conteúdos minerais, ou ainda por usos na indústria bioquímica são *Scenedesmus obliquus* e, eventualmente, *S. obtusus* (GUIRY e GUIRY, 2018).



b) *Chlorella*

Pertencentes a classe de microalgas verdes Chlorophyceae, este gênero de algas planctônicas apresenta indivíduos unicelulares, solitários e de vida livre. A célula é esférica, elipsoidal ou ovóide, e em alguns casos, uma certa assimetria pode ser observada, com morfologia reniformes (BICUDO e MENEZES, 2006). Os indivíduos, assim como os demais pertencentes à divisão Chlorophyta, apresentam clorofila *a* e *b*, bem como reservam energia na forma de amido (FIGURA 2).

Apresentam alto desempenho em ecossistemas aquáticos, podendo ser encontradas em água doce, ambientes salinos, águas de lagoas e lagos, em solos úmidos ou até mesmo na superfície de troncos de árvores ou no interior de protozoários, tendo, no entanto, preferência por ambientes pouco turbulentos (CHAPMAN et al., 1973; BICUDO e MENEZES, 2006).



FONTE: UTEX SCIENTIFIC (2018)

Sua versatilidade em sistemas de cultivo em massa faz desses microrganismos candidatos proeminentes para diversas aplicações biotecnológicas. Em alguns países, os extratos de *Chlorella* são utilizados para tratamento médico devido a suas propriedades imunomoduladoras e anticâncerígenas (SAFI et al., 2014).

Conforme citado anteriormente, a principal reserva de energia deste gênero de microalgas é o amido, porém sob certas condições de “*stress*” estas podem armazenar maior quantidade de lipídeos ou proteínas. São utilizadas como fonte



nutricional para peixes, aditivos e suplementação alimentar para humanos, matéria-prima para biodiesel e para tratamento de resíduos (HOEK et al., 1995).

Podem crescer de forma eficiente sob diferentes condições ambientais, ou seja, são resistentes às oscilações de temperaturas que vão de 4°C a 35°C, e intensidade luminosa de 1.000 até 70.000 lux. Estas características tornam esta microalga uma das cepas mais versáteis da indústria de cultura de microalgas. Além disso, a microalga *Chlorella* também pode ser produzida sob diferentes condições de crescimento com foco na acumulação de componentes específicos de interesse.

As aplicações destas microalgas vão desde a alimentação humana para aplicações em viagens espaciais até a geração de bioenergia. Illman et al. (2000) estudaram a composição de cepas de *Chlorella sp.* cultivadas em meio com baixa concentração de nitrogênio e concluíram que esta espécie pode ser utilizada como fonte de matéria-prima para produção de biodiesel. Xu et al. (2006) também obtiveram sucesso na produção de biodiesel a partir de cultivos de *Chlorella sp.*

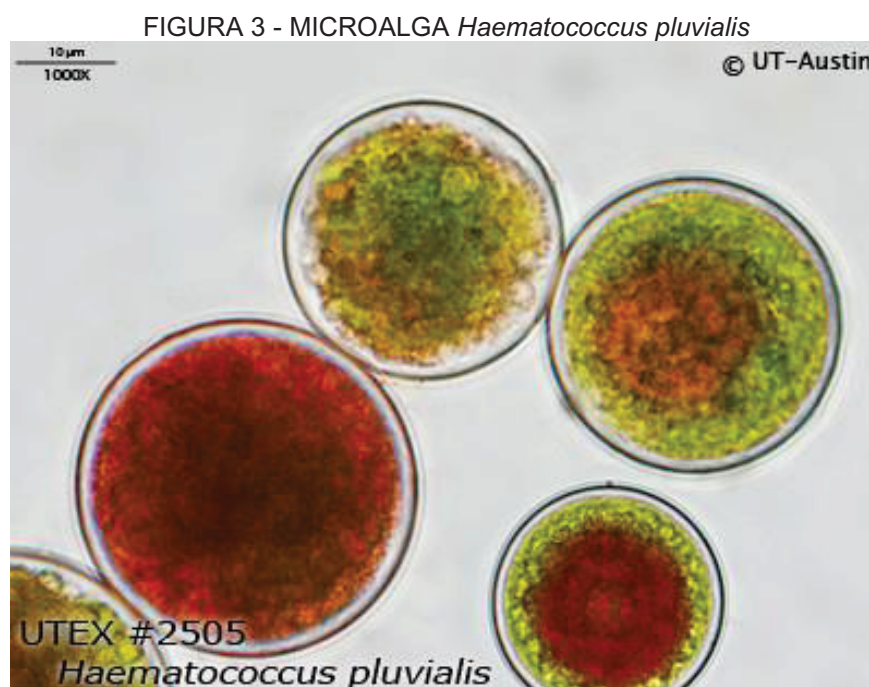
Devido ao rápido crescimento, a *Chlorella* tem sido utilizada em várias aplicações industriais sendo capaz de fixar CO<sub>2</sub> provenientes de gases de combustão (VAN DEN HENDE et al., 2012). Além disso, contém altas quantidades de proteína (51 - 58%), carboidratos (12 - 17%) e lípidos (14 - 22%) que podem ser utilizados para várias aplicações comerciais e industriais (BECKER, 1994 e CHEAH et al., 2015).

### c) *Haematococcus*

Organismos unicelulares e biflagelados, os indivíduos deste gênero apresentam células ovóides, elipsóides ou globosas. Assim como as demais clorófitas, apresentam clorofila *a* e *b*, e a reserva de amido. Apresentam de um a dois pirenóides por célula, bem como um grande estigma, associado à presença de flagelos na célula. A cor verde da clorofila é geralmente mascarada pela alta concentração de hematocromo (astaxantina) (GUIRY e GUIRY, 2018).

O gênero *Haematococcus* é cosmopolita, sendo reportado em todos os continentes, exceto na Antártica. Isolados de *Haematococcus* podem utilizar nitrogênio orgânico e acetato, além de crescerem heterotroficamente no escuro (GUIRY e GUIRY, 2018).

A espécie mais comum é *Haematococcus pluvialis* (FIGURA 3), que sob condições de “stress” acumula astaxantina e lipídeos em grandes concentrações (GRUNEWALD et al., 2001; DAMIANI et al., 2006). A capacidade desta microalga de sobreviver em uma ampla gama de condições ambientais, juntamente com a sua capacidade de modificar de maneira eficaz o seu metabolismo lipídico em resposta a diferentes condições de “stress”, a torna um organismo interessante quando o foco é a produção de biomassa. Diversos estudos sobre a produção de ácidos graxos e de astaxantina a partir de *H. pluvialis* já foram realizados (YUAN e CHEN, 2000; ZHEKISHEVA et al., 2002).



FONTE: UTEX SCIENTIFIC (2018)

### 2.1.3 Interação de microalgas e elementos limitantes

Consideradas produtores primários em ecossistemas aquáticos, as microalgas produzem suas reservas através do processo de fotossíntese, fixando o carbono e gerando matéria orgânica. Mesmo sendo responsáveis pela produção da energia que consomem, os produtores primários, assim como os demais seres vivos, requerem elementos químicos essenciais ao seu crescimento e desenvolvimento.

Os elementos químicos circulam na biosfera através de vias características para cada elemento. Estes, inclusive os essenciais à manutenção da vida, passam do ambiente aos organismos e destes novamente para o ambiente, em caminhos mais

ou menos circulares, denominados ciclos biogeoquímicos (ODUM, 1988). Em seguida serão ilustradas as principais vias de obtenção destes elementos, bem como a atuação das microalgas na ciclagem de nutrientes na biosfera.

#### a) Ciclo do nitrogênio

O crescimento de todos os organismos depende da disponibilidade de nutrientes minerais, em especial, o nitrogênio, requerido para a composição de peptídeos, proteínas, enzimas, ATP (adenosina trifosfato), ADP (adenosina difosfato), ácidos nucleicos (DNA, RNA), além da clorofila (anel de porfirina) (BARSANTI e GUALTIERI, 2006).

No caso das espécies de cianobactérias, quase todas são fotossintetizantes, sendo algumas capazes de fixar nitrogênio ( $N_2$ ). No caso das fixadoras de  $N_2$ , estas têm requisitos nutricionais mais simples que os demais seres vivos, precisam somente de  $N_2$  e  $CO_2$ , bem como alguns minerais e água. Em função de sua independência nutricional, as cianobactérias apresentam alta capacidade de colonização de novos substratos, como rochas nuas e solo (CURTIS, 1977).

Segundo Barsanti e Gualtieri (2006), os principais caminhos da fixação biológica de nitrogênio são regidos por complexas relações microbiológicas, realizadas exclusivamente por bactérias e algumas espécies de cianobactérias. Estes processos estão listados abaixo:

- Redução do nitrogênio atmosférico ( $N_2$ ) em amônia ( $NH_3$ ) – Fixação;
- Conversão de nitrato ( $NO_3^-$ ) e amônio ( $NH_4^+$ ) em nitrogênio orgânico – Assimilação;
- Conversão do nitrogênio orgânico em  $NH_4^+$  – Mineralização;
- Conversão do  $NH_4^+$  para nitrito ( $NO_2^-$ ) e sucessivamente para  $NO_3^-$  – Nitrificação;
- Conversão do  $NO_3^-$  para formas gasosas de nitrogênio como NO, óxido nitroso ( $N_2O$ ) e  $N_2$  – Denitrificação;

No caso específico de microalgas que tem a capacidade de fixar nitrogênio, sua atividade é restrita aos processos de fixação e assimilação. Algumas espécies de cianobactérias convertem nitrogênio molecular (atmosférico) em compostos como a amônia. Estes são convertidos em aminoácidos, proteínas e outros compostos celulares nitrogenados. Outra parte deste nitrogênio fixado é excretado para o meio

ambiente. No caso de cianobactérias, a fixação de nitrogênio é um processo induzido pela baixa concentração do gás no ambiente (BARSANTI e GUALTIERI, 2006).

O processo de fixação de nitrogênio em algumas espécies de cianobactérias é possível pela ação da enzima nitrogenase. Na maioria dos organismos, esta enzima representa mais de 10% do total de proteínas celulares. Segundo Stal (2001), a nitrogenase é uma enzima altamente sensível à presença de oxigênio (a enzima se inativa na presença de  $O_2$ ). Desta forma, as cianobactérias desenvolveram mecanismos de separação do processo de fixação de  $N_2$  e da fotossíntese (onde o  $O_2$  é liberado). Estes mecanismos podem ser de heterogeneidade espacial (semitemporal), caso das cianobactérias marinhas *Trichodesmus* e *Katagnymene*, ou uma separação temporal completa, com fixação de nitrogênio somente à noite (caso da *Oscillatoria* e *Plectonema*). Também há as situações de separação espacial, com a ocorrência de células específicas para a fixação de nitrogênio, os heterocistos, como no caso das cianobactérias filamentosas dulcícolas *Nostoc* e *Anabaena* (BARSANTI e GUALTIERI, 2006). Estas células não apresentam o fotossistema que libera oxigênio e apresentam uma parede celular de glicolipídeos que impede que a concentração de oxigênio interna se eleve, tornando possível a fixação de nitrogênio (STAL, 2001).

Diferentemente das cianobactérias, algas eucarióticas são incapazes de realizar a fixação de nitrogênio e incorporam nitrogênio a partir de formas como nitrato, nitrito e amônio, transformando-os em formas orgânicas por assimilação. Nestas algas, o  $N_2$  não pode ser fixado em função da ligação tripla entre os dois átomos de nitrogênio, que tornam a molécula praticamente inerte. Para que o nitrogênio atmosférico possa ser utilizado para o crescimento celular, o gás precisa ser fixado em formas inorgânicas como amônio e íons nitrato (BARSANTI e GUALTIERI, 2006).

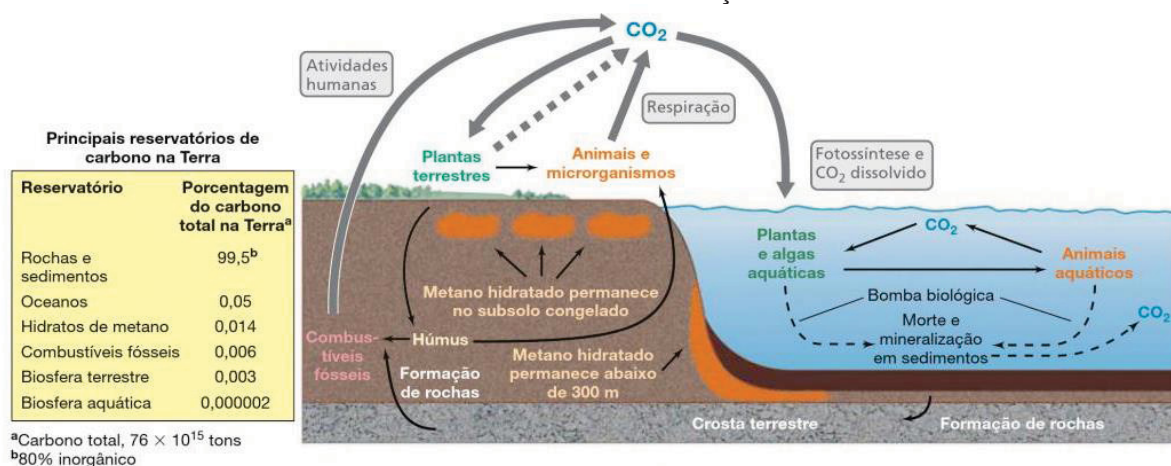
#### b) Ciclo do carbono e do oxigênio

Os ciclos do carbono e do oxigênio são intimamente ligados em função da relação destes elementos com processos fotossintéticos (BARSANTI e GUALTIERI, 2006).

De acordo com MADIGAN et al. (2016), o maior reservatório de carbono na superfície terrestre está relacionado à rochas e sedimentos, no entanto, a disponibilidade deste elemento a partir destes reservatórios é insignificante em uma

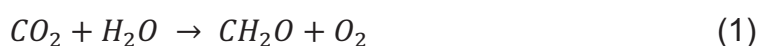
escala humana de tempo. É na atmosfera que a ciclagem de carbono ocorre de forma mais rápida, onde são realizadas transferências globais deste elemento (FIGURA 4).

FIGURA 4 - CICLO DO CARBONO E SUAS RELAÇÕES COM O CICLO DO OXIGÊNIO



FONTE: MADIGAN et al. (2016).

O carbono, na forma de  $\text{CO}_2$ , torna-se disponível na atmosfera a partir das atividades antrópicas (queima de combustíveis fósseis, principalmente), decomposição microbiana e pela respiração dos organismos. Na presença de água e luz solar, através do processo de fotossíntese, organismos autotróficos retiram o  $\text{CO}_2$  da atmosfera, fixando-o em compostos orgânicos, biologicamente sintetizados (MADIGAN et al., 2016). Este processo pode ser compreendido pela Equação (1).



Conforme comentado anteriormente, o ciclo do oxigênio é intimamente ligado ao do carbono, pois ambos estão relacionados ao processo de fotossíntese. Desta forma, na presença da luz solar, ao fixar o dióxido de carbono, os vegetais liberam o oxigênio molecular, como bioproduto do processo (BARSANTI e GUALTIERI, 2006).

Com o encerramento do fotoperíodo, as plantas e algas passam a respirar, consumindo oxigênio e liberando novamente o  $\text{CO}_2$ . A Equação (2) é inversa à Equação (1).



Com relação às microalgas, apesar de oxidarem matéria orgânica e consumirem oxigênio à noite, há uma diferença significativamente superior na quantidade de carbono fixada no processo de fotossíntese, durante o dia. Desta forma, é nos oceanos que ocorre grande parte da fixação biológica de CO<sub>2</sub>. Segundo Madigan et al. (2016), é pelo processo de fotossíntese que organismos autótrofos constroem biomassa a partir do CO<sub>2</sub> disponível, seja na atmosfera ou na água. Esta biomassa torna-se disponível para outros níveis tróficos, tornando-se novamente disponível com a morte dos organismos. É desta forma que o carbono que, originalmente foi removido da atmosfera, volta a ciclar no ecossistema.

Com relação aos ambientes marinhos, o CO<sub>2</sub> entra nos oceanos através da atmosfera, por ser altamente solúvel em água. Na água do mar, o CO<sub>2</sub> dissolvido combina-se com a água e forma íons bicarbonato (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) e carbonatos (CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>), conforme a Equação (3) de equilíbrio abaixo. Estes íons representam a maior porção do CO<sub>2</sub> dissolvido na água do mar (BARSANTI e GUALTIERI, 2006).



Com a remoção do CO<sub>2</sub> livre, dissolvido na água, para o processo de fotossíntese, esta equação tende para à esquerda, e as formas iônicas ligadas liberam mais CO<sub>2</sub>. Desta forma, mesmo que haja uma demanda elevada por CO<sub>2</sub> para a fotossíntese, o mesmo nunca se torna limitante (BARSANTI e GUALTIERI, 2006).

Ainda sobre o equilíbrio do CO<sub>2</sub> na água do mar, alguns organismos marinhos combinam o cálcio com o bicarbonato, na produção de conchas, onde o carbonato de cálcio é a matriz estruturante. Com a morte destes organismos, seu esqueleto calcário se dissolve, liberando CO<sub>2</sub> novamente, ou afunda, sendo incorporado no sedimento (BARSANTI e GUALTIERI, 2006).

## 2.2 CULTIVO DE MICROALGAS

### 2.2.1 Condições de cultivo

Segundo Raven et al. (2001), o crescimento de uma população de microalgas resulta de fatores biológicos, químicos e físicos e suas interações. Os fatores biológicos estão associados ao metabolismo celular e à presença de contaminantes



no sistema, como bactérias e outras espécies de microalgas invasoras. Os fatores físicos e químicos estão relacionados aos efeitos provocados pela luminosidade, controle de temperatura, pH e disponibilidade de fontes de carbono e nutrientes como nitrogênio, fósforo e metais (OLIVEIRA, 2015).

#### a) pH

Um dos fatores biológicos que pode afetar o pH da água de cultivo é a fotossíntese. Com a remoção de  $\text{CO}_2$  da água durante o processo, há elevação do pH e consequente consumo de íons  $\text{H}^+$  (SILVA, 2014). O consumo de nitrato pelas microalgas também causa um aumento deste parâmetro no meio (ANDERSEN, 2005).

O pH do cultivo deve ser controlado e mantido dentro da faixa ótima para a espécie cultivada e permitir a assimilação do carbono na forma de  $\text{CO}_2$  e  $\text{HCO}_3^-$  (BECKER, 1994). A inserção de  $\text{CO}_2$  no meio de cultivo é uma alternativa utilizada para diminuir o pH do meio e prevenir mudanças bruscas no mesmo (BARSANTI e GUALTIERI, 2006).

Somando o baixo poder tamponante dos meios tipicamente utilizados ao metabolismo fotossintético de cultivos com alta densidade celular, a ausência de um sistema de controle do pH pode resultar num aumento deste para valores maiores que 9, limitando o crescimento microalgal (BECKER, 1994; BARSANTI e GUALTIERI, 2006). A faixa de pH das culturas de algas pode variar de 7 a 9, com a faixa ótima de 8,2 a 8,7 unidades (LAVENS e SORGELOOS, 1996).

#### b) Temperatura

A temperatura ótima para as culturas de fitoplâncton está situada entre 20 e 24°C, embora possa variar de acordo com a composição do meio de cultura e das espécies cultivadas. Em geral as espécies de microalgas em microculturas toleram temperaturas entre 16 e 27°C (LAVENS e SORGELOOS, 1996). Enquanto temperaturas abaixo do ponto ótimo geralmente não causam morte celular, exceto em condições de congelamento, temperaturas acima do ponto ótimo geralmente ocasionam a morte celular (ALABI et al., 2009). O controle da temperatura é um desafio importante para os cultivos expostos diretamente às condições meteorológicas, como os cultivos realizados em ambiente externo. A temperatura

desses cultivos é influenciada pelas condições atmosféricas, podendo variar mais de 20°C em um dia (PEREIRA, 2013).

Segundo Lourenço (2006), este parâmetro pode afetar a taxa metabólica das microalgas, e desta forma merece atenção redobrada, devendo ser escolhida em função das necessidades das espécies presentes e da finalidade dos cultivos. Os efeitos da temperatura podem ser minimizados com aeração nos cultivos, aumentando assim a taxa de crescimento da microalga.

A composição química da biomassa de microalgas é influenciada pelas condições ambientais em que é cultivada, incluindo a temperatura e a luminosidade. Cultivos em temperaturas altas têm sido relacionados ao decréscimo na concentração de proteínas na biomassa, e aumento em lipídeos e carboidratos (TOMASELLI et al., 1988). Contudo, diferentes estudos têm demonstrado que a composição química da biomassa de microalgas em resposta a variação de baixas ou altas temperaturas varia de acordo com a espécie cultivada (THOMPSON et al., 1992).

A temperatura tem um efeito importante sobre os tipos de ácidos graxos produzidos por microalgas (SATU e MURATA, 1980 e THOMPSON et al., 1992). Muitas espécies de microalgas respondem a baixas temperaturas de cultivo, aumentando a proporção de ácidos graxos insaturados para ácidos graxos saturados. No entanto, a resposta à temperatura de crescimento varia de espécie para espécie, sem qualquer relação consistente entre a temperatura global.

É interessante que a temperatura seja constante nos cultivos de microalgas, para que proporcione melhor estabilidade, reprodutibilidade e previsibilidade nos experimentos. As salas climatizadas proporcionam o controle de temperatura com maior facilidade, porém para cultivos em escala comercial é mais difícil manter a temperatura constante (LOURENÇO, 2006). Para cultivo de microalgas em alguns tipos de fotobiorreatores é interessante o uso de trocadores de calor interno para controlar a temperatura da cultura.

### c) Iluminação

Microalgas são microrganismos autotróficos fotossintetizantes, ou seja, que transformam água, CO<sub>2</sub> e minerais em biomassa e oxigênio, através de uma reação mediada pela energia luminosa (MONTEIRO, 2015). Desta forma, a disponibilidade e intensidade de luz afetam diretamente o crescimento microalgal. A velocidade de



fotossíntese e de crescimento das células aumenta com o aumento da intensidade luminosa até que seja alcançado o ponto de saturação. A partir desse ponto, não há aumento da velocidade de crescimento e pode ocorrer danos aos receptores de luz das células, causando a diminuição das velocidades de fotossíntese e de crescimento (ALABI et al, 2009). A intensidade da luz tem efeito diferente sobre as espécies de microalgas, por isso algumas espécies necessitam de mais ou menos energia da luz para conduzir o processo da fotossíntese (SUALI et al, 2012).

A luminosidade recebida pelas células nos cultivos microalgais está diretamente ligada a taxa de fixação de carbono pelas células, influenciando a taxa de crescimento celular (DERNER et al., 2006).

Por outro lado, o excesso de energia luminosa pode desencadear o processo de fotoinibição, definido pela alteração e eventual inativação do fotossistema II (PSII), afetando o transporte de elétrons na cadeia de reações de redução NADP<sup>+</sup> a NADPH. Segundo Taiz e Zeiger (2006), a fotoinibição é um complexo conjunto de processos moleculares, definidos como a inibição da fotossíntese pelo excesso de luz, que pode ser classificado como moderado ou intenso, o que determina se a fotoinibição é dinâmica ou crônica.

Tal como as plantas, as microalgas realizam fotossíntese e assimilam carbono inorgânico para a conversão em matéria orgânica, sendo a luz a fonte de energia que aciona esta reação. A intensidade da luz desempenha um papel importante neste processo, em que parâmetros como a profundidade da cultura e a densidade celular dos cultivos podem variar e interferir na eficiência de captação de luz. Em sistemas que apresentam grandes profundidades e concentrações de células altas, a intensidade da luz deve ser aumentada para penetrar nas culturas (por exemplo, 1.000 lux é apropriado para frascos de Erlenmeyer de 2 litros, por outro lado, para volumes maiores são necessários de 5.000 a 10.000 lux).

A fonte luminosa nos cultivos de microalgas pode ser natural ou fornecida por lâmpadas fluorescentes. Segundo Lourenço (2006), a iluminação é um dos pilares do cultivo de microalgas, e desta forma, demanda atenção especial para o sucesso das atividades. Os melhores resultados em cultivos laboratoriais de microalgas são alcançados com iluminação artificial fluorescente. Assim, cada prateleira ou bancada em que se colocam cultivos deve ser iluminada por lâmpadas fluorescentes, fornecendo mais energia aos frascos experimentais do que apenas a luz difusa do ambiente que é insuficiente para proporcionar crescimento adequado às microalgas.

Tanto em sistemas de cultivos externos (“*outdoor*”) como nos cultivos internos e laboratoriais (“*indoor*”), a fonte e a intensidade luminosa são fatores críticos que afetam o desempenho do crescimento fotoautotrófico das microalgas (MATA et al., 2010). Para cultivos externos, a luz solar é a principal fonte de luminosidade, por outro lado, quando se trata de cultivos “*indoor*”, fontes de luz artificial são mais utilizadas, podendo ser citadas algumas experiências inovadoras como por exemplo, LED e fibra óptica.

Além disso, é possível transmitir a energia solar exterior para iluminar fotobiorreatores fechados, tal como é feito em sistemas de fibra óptica solar de energia (Of-SOLAR).

Estudos têm demonstrado que microalgas verdes crescem melhor no espectro de luz azul e vermelho, devido a presença de clorofila *a* e *b*, que são os principais pigmentos de captação de luz e que são sensíveis a estes comprimentos de onda. Yun e Park (2001) demonstraram que para várias concentrações de células de *Chlorella vulgaris* a absorção da luz permaneceu em 400 - 500 nm (azul) e 625 - 675 nm (vermelho).

Em outro estudo, a microalga *Scenedesmus obliquus* aumentou significativamente a concentração celular e a divisão de núcleos ocorreu mais cedo quando cultivada com luz vermelha (625 - 675 nm) (CEPAK et al., 2006).

#### d) Aeração

Nos cultivos fotoautotróficos, as microalgas necessitam de uma fonte de carbono inorgânico para realização da fotossíntese (ANDERSEN, 2005). A concentração de CO<sub>2</sub> no ar é muito baixa (0,04%) (PEREIRA, 2013), originando uma concentração de CO<sub>2</sub> dissolvido no meio também baixa, e que frequentemente limita o crescimento. Portanto, para alcançar uma alta produtividade de biomassa, é comum suplementar CO<sub>2</sub> ao meio através do fornecimento de ar enriquecido com CO<sub>2</sub> a concentrações entre 0,2 e 5% (v/v) (BECKER, 1994; ANDERSEN, 2005; ALABI et al., 2009).

Quando ar enriquecido com CO<sub>2</sub> é utilizado, devem ser tomados alguns cuidados para que a dissolução de CO<sub>2</sub> na água e consequente liberação de íons H<sup>+</sup> não abaixe o pH do cultivo a ponto de alcançar valores que prejudiquem o crescimento das microalgas (ANDERSEN, 2005; ALABI et al., 2009).

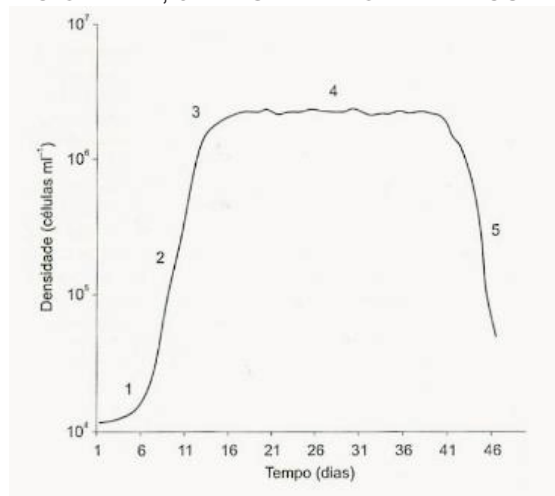
As condições hidrodinâmicas nos biorreatores influencia diretamente a produtividade das culturas. O rendimento da produção aumenta inicialmente com a turbulência do sistema, devido principalmente a melhoria do fornecimento de CO<sub>2</sub> e luz. Contudo, ao atingir um nível ótimo, o rendimento diminui rapidamente com o aumento na turbulência. Bronnenmeier e Märkl (1982) investigaram o crescimento de microalgas e cianobactérias como uma função da tensão hidromecânica do sistema. A fragilidade das células da microalga *Porphyridium cruentum* em fotobiorreatores fechados bombeados mecanicamente foi demonstrada qualitativamente, juntamente com a fragilidade celular. No geral, poucos estudos quantitativos que abordam os efeitos hidrodinâmicos de aeração e agitação sobre microalgas fotoautotróficas foram publicados. O relatório mais completo pertence aos autores Yang e Wang (1992), muito embora a microalga *Ochromonas malhamensis* tenha sido cultivada heterotroficamente em seu estudo.

#### 2.2.2 Crescimento microalgal

O crescimento de uma cultura celular pode ser determinado através da sua curva de crescimento e expresso em número de células por mililitro de cultivo (células.mL<sup>-1</sup>). Ao ser determinada a curva de crescimento para uma dada estirpe de microrganismo e as relativas condições de cultura, se faz possível determinar a densidade ótima, ou ponto de densidade celular que a cultura deve estar antes de ser realizada a transferência para um novo meio ou para ser realizada a coleta da biomassa microalgal.

Basicamente, existem cinco fases definidas para o crescimento de microalgas em meio líquido: fase lag, fase exponencial, fase de diminuição do crescimento relativo, fase estacionária e fase de morte da cultura (FIGURA 5).

FIGURA 5 - GRÁFICO DE CRESCIMENTO DE MICROALGAS. 1 - FASE LAG; 2 - FASE EXPONENCIAL; 3 - FASE DE DIMINUIÇÃO DO CRESCIMENTO RELATIVO; 4 - FASE ESTACIONÁRIA; 5 - FASE DE MORTE DA CULTURA.



FONTE: Lourenço (2006).

#### a) Fase de Indução ou Fase Lag

A fase de indução ou fase lag é o estágio em que se segue à inoculação das células ao novo meio de cultura, e na qual pode ser observada uma baixa taxa de crescimento específico. Esta fase é relativamente curta, caracterizada por não ocorrer crescimento da cultura. A demora no crescimento pode estar ligada à presença de células não viáveis, ou simplesmente pela adaptação fisiológica das células ao meio de cultivo que apresenta mudanças nas condições de nutrientes.

As condições em que se encontra o inóculo inicial utilizado na repicagem apresenta forte influência na duração desta fase. Por exemplo, uma cultura iniciada a partir de um inóculo em fase exponencial de crescimento terá uma fase de latência mais curta, ou até mesmo poderá nem se observar demora no crescimento celular, se a transferência para o novo meio ocorrer nas mesmas condições de luminosidade, temperatura, concentração de nutrientes e salinidade. Por outro lado, quando utilizado inóculos com tempo de cultivo avançado em que a cultura se encontra em fase de declínio e morte celular, poderá ser observado uma demora relativamente grande para o início da divisão celular (LOURENÇO, 2006).

#### b) Fase Exponencial ou Fase Log

Ao final da fase de adaptação, a taxa de crescimento celular torna-se maior e constante durante um curto período de tempo. Diferentes variáveis influenciam a taxa

de crescimento alcançada nesta fase, como por exemplo, a concentração de nutrientes, a luminosidade, o pH, a temperatura e a densidade celular do inóculo utilizado.

Esta fase é caracterizada, por ocorrer um aumento constante do número de organismos na cultura, podendo ser observada a duplicação do número total de células em menos de uma hora. As células se dividem como uma função exponencial de tempo, ao mesmo tempo em que os substratos minerais e a energia luminosa são saturados. No momento em que algum componente do cultivo se torna limitante a fase exponencial termina e observa-se a redução na taxa de crescimento (LOURENÇO, 2006).

#### c) Fase de Diminuição do Crescimento Relativo

Nesta fase ocorre o declínio do crescimento da cultura, influenciada pela redução na concentração de nutrientes no cultivo e pelo auto-sombreamento celular no interior dos cultivos com alta densidade de células. Normalmente este declínio acontece quando um requisito para a divisão celular se torna limitante ou algum fator inibe a reprodução celular. Nesta fase a biomassa é alta, sendo a exaustão em termos de nutrientes, limitação de dióxido de carbono e luz as principais causas no declínio de crescimento (LOURENÇO, 2006).

#### d) Fase Estacionária

Fase em que se observa o rendimento celular máximo de acordo com as características experimentais aplicadas. Caracterizada pela estabilidade ou ausência no crescimento celular, a duração desta fase também depende de fatores individuais como espécie utilizada e das condições de cultura empregadas.

Representações gráficas das fases de crescimento de microalgas exibem a fase estacionária como um platô, sugerindo crescimento nulo nesta fase, contudo as células podem ainda apresentar crescimento discreto nesta fase. Neste momento, diversos nutrientes são completamente exauridos no cultivo tornando o crescimento celular pleno impossível, culminando assim, com o início da fase de declínio celular (LOURENÇO, 2006).

#### e) Fase de Morte da Cultura

Esta fase é marcada pela morte e lise celular, observando-se a presença de substâncias inibidoras no cultivo. A taxa de crescimento é negativa, devido a diferença no número de indivíduos capazes de se reproduzir em relação ao número de indivíduos que morrem. Em culturas não axênicas, ou seja, contaminadas por outros organismos, observa-se o aumento da densidade bacteriana, atingindo o número máximo ao longo do desenvolvimento do cultivo. A duração desta fase é altamente variável, podendo ser tão curta quanto a fase exponencial de crescimento, ocorrendo a redução total do número de indivíduos em cultivo num curto espaço de tempo (LOURENÇO, 2006).

### 2.3 BIOFIXAÇÃO DE EMISSÕES

O aquecimento global e a gestão sustentável dos recursos naturais do planeta são questões de grande relevância para nossa sociedade atual e se apresentam como uma grande oportunidade para a biotecnologia de microalgas.

Os cultivos de microalgas devem apresentar baixo custo de produção quando se pensa em aplicações como a biotecnologia ambiental, bionergia, suplementação nutricional e química fina (BECKER, 1994). Dentre os requisitos básicos na produção das microalgas, o carbono é um recurso fundamental para se atingir uma produção bem sucedida, uma vez que este é o principal elemento consumido pelas microalgas (36 a 65% da matéria seca) (CHAE et al., 2006; SYDNEY et al., 2010). Dentro deste cenário, os gases de combustão são um recurso que devem ser explorados nos cultivos de microalgas, não só para moderar os efeitos antropogênicos ligados as alterações climáticas, mas também para melhorar a eficiência da gestão dos recursos na produção de biomassa de microalgas.

A utilização apenas do CO<sub>2</sub> presente no ar ambiente nas culturas de microalgas não é eficaz para obter uma elevada produtividade de biomassa, devido a baixa concentração deste elemento no ar (380 ppmv de CO<sub>2</sub>) (MCGINN et al., 2011). Considerando que em média é requerido 1,8 kg de CO<sub>2</sub> para cada 1 kg de biomassa seca de microalgas, a adição de carbono inorgânico como sais de bicarbonato ou CO<sub>2</sub> comprimido envolve um custo relativamente grande (CHISTI, 2007). O fornecimento de CO<sub>2</sub> comprimido nos cultivos de microalgas equivale a 41% dos custos totais de

matéria-prima. Além disso, quando se trata de cultivos abertos de microalgas, que são os sistemas mais utilizados atualmente, estes apresentam perdas significativas de CO<sub>2</sub> devido a baixa eficiência em trocas gasosas (RICHMOND, 2004). A utilização direta de gases de combustão contendo CO<sub>2</sub> é economicamente e ambientalmente uma opção a ser considerada, especialmente quando as plantas de combustão e geração de emissões se encontram perto dos locais em que se produzem microalgas.

Além do CO<sub>2</sub>, o gás de combustão pode conter até 142 compostos diferentes, tais como H<sub>2</sub>O, O<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, óxidos de nitrogênio (NO<sub>x</sub>), óxidos de enxofre (SO<sub>x</sub>), hidrocarbonetos (C<sub>x</sub>H<sub>y</sub>), CO, metais pesados e material particulado (MP). Gases como dióxido de enxofre (SO<sub>2</sub>) podem ser tóxicos para as microalgas, enquanto outros podem ser metabolizados pelas mesmas como é o caso do óxido de nitrogênio (NO) (NAGASE et al, 2001; LEE et al, 2000). Nota-se que grande parte das pesquisas atuais focadas na injeção de emissões em culturas de microalgas concentram-se especificamente no processo de biofixação de CO<sub>2</sub>, apresentando grande oportunidade para pesquisas relacionadas a outros gases de combustão como por exemplo NO<sub>x</sub> e SO<sub>x</sub> (LEE et al., 2000; JACOB- LOPES et al., 2010 e HO et al., 2011).

### 2.3.1 Dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>)

Dentre as alternativas para a mitigação de CO<sub>2</sub> existentes, a fixação biológica tem atraído muito a atenção pois leva à produção de biomassa por meio da fotossíntese, podendo ser realizada por plantas e microorganismos fotossintéticos como as microalgas (KONDILI e KALDELLIS, 2007). Uma parte considerável do carbono presente na Terra está na forma inorgânica como CO<sub>2</sub>. As microalgas apresentam cerca de 50% de carbono na sua constituição celular, e grande parte deste carbono é proveniente do ar (MATA et al., 2010).

As microalgas têm a capacidade de remover de 10 a 50 vezes mais CO<sub>2</sub>, a partir de fontes tais como gases de combustão, do que as plantas terrestres (WANG, 2008). Estudos de revisão sobre a tolerância das microalgas a gases de combustão indicam que níveis elevados de CO<sub>2</sub> foram tolerados por muitas espécies de microalgas e que níveis moderados de SO<sub>x</sub> e NO<sub>x</sub> (até 150 ppm) também foram suportadas (MATSUMOTO et al., 1997). *Chlorococcum littorale*, uma alga marinha, mostrou tolerância excepcional à elevada concentração de CO<sub>2</sub> de até 40% (IWASAKI et al., 1998; MURAKAMI e IKENOUCHI, 1997).



A tolerância das microalgas a altas temperaturas é um fator muito importante para reduzir os custos de arrefecimento da alimentação dos gases de combustão liberados das instalações industriais com alta temperatura. Várias cepas de microalgas verdes unicelulares, identificadas como espécies de *Chlorella*, foram isoladas de fontes termais no Japão (SAKAI et al., 1995). Estas espécies cresceram a temperaturas de até 42°C e com injeção de gases com mais de 40% de CO<sub>2</sub>. A TABELA 3 apresenta algumas espécies de microalgas que têm sido estudadas para biofixação de CO<sub>2</sub>.

TABELA 3 - ESPÉCIES DE MICROALGAS ESTUDADAS PARA A BIOFIXAÇÃO DE CO<sub>2</sub>.

MICROALGA	CO <sub>2</sub> (%)	T (°C)	REFERÊNCIA
<i>Chlorococcum littorale</i>	40	30	Murakami e Ikenouchi, 1997
<i>Chlorella kessleri</i>	18	30	Morais e Costa, 2007a
<i>Chlorella sp. UK001</i>	15	35	Murakami e Ikenouchi, 1997
<i>Chlorella vulgaris</i>	15	-	Yun et al., 1997
<i>Chlorella vulgaris</i>	Ar (0,04)	25	Scragg et al., 2002
<i>Chlorella vulgaris</i>	Ar (0,04)	25	Scragg et al., 2002
<i>Chlorella sp.</i>	40	42	Sakai et al., 1995
<i>Haematococcus pluvialis</i>	16 – 34	20	Huntley e Redalje, 2007
<i>Scenedesmus obliquus</i>	Ar (0,04)	-	Gomez-Villa et al., 2005
<i>Scenedesmus obliquus</i>	18	30	Morais e Costa, 2007b

FONTE: Adaptado de CHISTI (2007)

Algumas destas espécies podem tolerar altas temperaturas e elevadas concentrações de CO<sub>2</sub> na corrente de gás. O CO<sub>2</sub> fixado através da fotossíntese é convertido para diferentes componentes celulares, incluindo hidrocarbonetos, lípidos, proteínas, e ácidos nucleicos (SPOLAORE et al., 2006).

### 2.3.2 Óxido de nitrogênio (NO<sub>x</sub>)

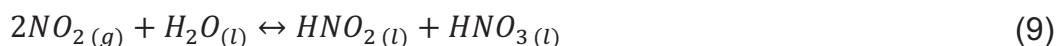
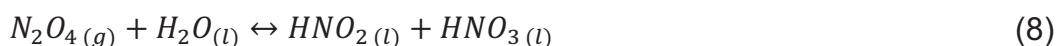
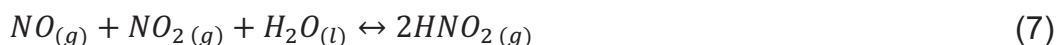
A alternativa mais atraente para limitar os problemas de poluição decorrente de óxidos de nitrogênio se encontra na redução das emissões de NO<sub>x</sub> na fonte geradora. No entanto, este processo nem sempre é possível e vantajoso. Por exemplo, diminuindo a quantidade de ar utilizado nos processos de combustão ocorre também a redução na concentração de NO<sub>x</sub> no gás residual. Contudo, esta manobra também afeta a eficiência da combustão. Uma vez que a redução dos níveis de emissão de NO<sub>x</sub> durante a combustão nem sempre é possível, tecnologias de tratamento geralmente precisam ser aplicadas.



Diante deste cenário, a remoção biológica de NO<sub>x</sub> presente em emissões poluentes é uma tecnologia emergente que pode ser aplicada para o controle da poluição do ar por fontes estacionárias. O princípio de funcionamento consiste basicamente pela passagem das emissões poluentes através de um sistema no qual culturas são armazenadas. Sobre condições ideais, os poluentes podem ser convertidos biologicamente em produtos finais como biomassa de alto valor.

Em geral, as espécies de NO<sub>x</sub> emitidas a partir de processos de combustão consistem de 95% de NO e 5% de NO<sub>2</sub> (WANG et al., 2008).

A absorção dos NO<sub>x</sub>, em presença de oxigênio (O<sub>2</sub>), em uma solução aquosa se traduz nas seguintes equações reacionais (CANTELLI, 2003):



Grande parte do trióxido de dinitrogênio (N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) e o tetróxido de dinitrogênio (N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>) produzidos são consumidos em reações paralelas, gerando outros compostos. Os ácidos nitroso (HNO<sub>2</sub>) e nítrico (HNO<sub>3</sub>) dissociam-se em água, reduzindo o pH do meio, originando os íons nitrito (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) e nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>):



Depois do carbono, o nitrogênio é o nutriente mais importante para a produção de microalgas. Considerando que a relação C:N da biomassa de microalgas é 6,66 (molar), de um modo geral esta proporção varia entre as espécies de 3 a 17 (GEIDER e LA ROCHE, 2002). As microalgas são capazes de utilizar o nitrogênio nas células de várias formas: NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NO e N<sub>2</sub> (GRAHAM e WILCOX, 2000).

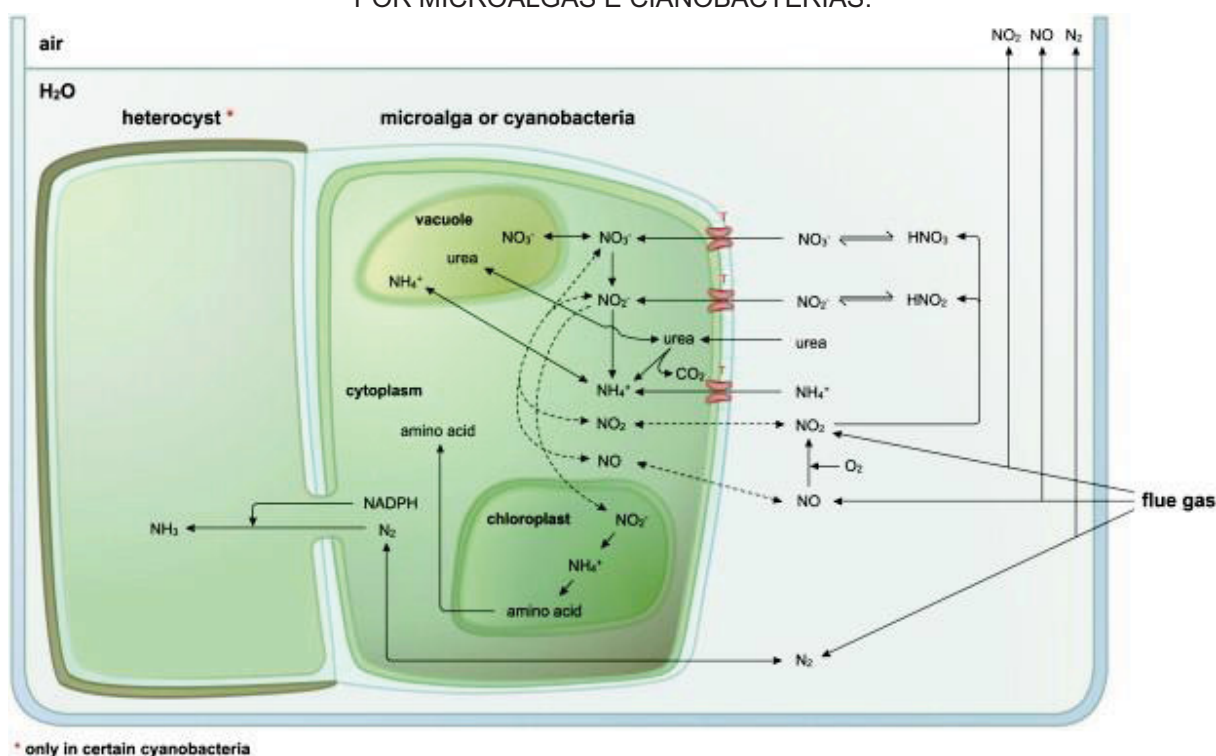
Em 1997, Nagase et al. verificaram que a presença de células de microalgas e de oxigênio aumentavam a biofixação de NO em reatores de microalgas. Por outro lado, na ausência de oxigênio e luz não ocorria a biofixação de NO nas culturas de microalgas. Os autores concluíram que na presença da luz, o NO primeiramente era dissolvido na água, e na sequência oxidado e assimilado pelas células:

$$\text{NO}_{(g)} > \text{NO}_{(aq)} \quad (13)$$

$$\text{NO}_{(aq)} + 0,5 \text{O}_2 > \text{NO}_{(2)} \quad (14)$$

Contudo, em 2001, Nagase et al. observaram que apenas uma pequena fração de NO era oxidado no meio antes da sua absorção pelas células das microalgas. Uma vez que o NO é uma molécula apolar pequena, os autores sugeriram que o NO se difundiu através das membranas celulares. Na FIGURA 6 é possível ver o modelo proposto para a captação e armazenamento de nitrogênio por microalgas e cianobactérias, podendo ser observadas as diferentes rotas de utilização de nitrogênio nas células de microalgas. As linhas pontilhadas indicam caminhos que precisam de uma investigação mais aprofundada.

FIGURA 6 - MODELO PROPOSTO PARA A CAPTAÇÃO E ARMAZENAMENTO DE NITRÓGENIO POR MICROALGAS E CIANOBACTÉRIAS.



FONTE: STUMM e MORGAN (1981); GRAHAM e WILCOX (2000); NAGASE et al. (2001).

Analisando a figura é possível observar que após a absorção pelo sistema de transporte de membrana (T), a amônia é convertida diretamente em nitrogênio orgânico que é utilizado na produção de aminoácidos. Em contraste, o nitrato tem de ser reduzido a nitrito e posteriormente para amônia pela enzima nitrato redutase. O NO pode se difundir livremente através da membrana da célula para ser assimilado. O NO também pode ser produzido por microalgas a partir de nitrito. Certas espécies de cianobactérias podem fixar N<sub>2</sub> num heterocisto adjacente.

A tolerância das microalgas com relação a concentração de NO<sub>x</sub> no meio depende da densidade de células de microalgas (YOSHIHARA et al., 1996), da concentração de NO<sub>x</sub> (DOUCHA et al., 2005), do fluxo de gás (LI et al., 2011), do tipo de reator utilizado (NAGASE et al., 1997) e das espécies cultivadas (RADMANN e COSTA, 2008).

## 2.4 FOTOCATÁLISE

Fotocatalisadores convertem energia luminosa em energia química, utilizada para oxidar ou reduzir determinados materiais. Podem ser usados para diversas aplicações que incluem a produção de materiais e o tratamento de emissões ambientais (FUJISHIMA, 1999).

Estudos com fotocatalise têm sido desenvolvidos desde a descoberta do fenômeno em 1972, pela reação da fotólise da água em eletrodos de platina e dióxido de titânio (FUJISHIMA e HONDA, 1972), quando se notaram as evoluções de hidrogênio e oxigênio em cada um dos respectivos eletrodos ao submeter o sistema a uma iluminação com comprimento de onda de aproximadamente 415 nm. A formação de hidrogênio e oxigênio provam que há uma transformação da energia luminosa em energia química (OHTA, 2013).

Desde então foram realizados muitos estudos com fotocatalise e uma grande quantidade de informação experimental e teórica a respeito do fenômeno tem sido desenvolvida, construindo os fundamentos da fotocatalise, variando de superfícies ativadas, produção de cargas e as aplicações da técnica (LINSEBIGLER, LU, YATES, 1995).

A poluição do ar é reconhecida como causadora de diversos problemas de saúde ao redor do globo, onde os poluentes são geralmente separados em duas categorias principais: materiais particulados e poluentes gasosos (BRUNEKREEF e

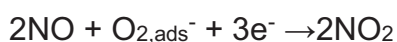
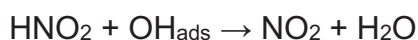
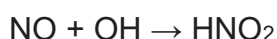
HOLGATE, 2002). Os materiais particulados geralmente podem ser tratados com métodos físicos tradicionais, que não requerem mecanismos muito complexos. No entanto, a fotocatalise tem se provado um método promissor para o tratamento dos poluentes gasosos, majoritariamente fazendo uso do processo de oxidação fotocatalítica (PCO) para remover  $\text{NO}_x$ ,  $\text{SO}_x$ , VOC's e odores (PERAL et al., 1997; MO, et al, 2009; LASEK et al., 2013; SUN et al, 2016).

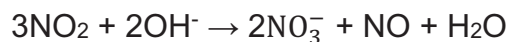
#### 2.4.1 Processo de fotocatalise para tratamento de poluentes gasosos

Um dos processos com fotocatalise em maior desenvolvimento para a purificação de emissões gasosas é a oxidação fotocatalítica (PCO). Na oxidação fotocatalítica, os poluentes são oxidados em substâncias mais estáveis e geralmente solúveis em água, que podem ser adsorvidas, consumidas por um sistema biológico, ou as vezes até mesmo diretamente recicladas (ex:  $\text{HNO}_3$  e  $\text{NO}_2$  na oxidação de  $\text{NO}_x$ ). As principais vantagens do processo de PCO são: custo-benefício, possibilidade de uso de energia solar, economia energética, oxidação de poluentes em temperatura e pressão ambientes, ausência de reagentes adicionais e recuperação de  $\text{NO}_x$  como  $\text{HNO}_3$ , matéria-prima para diversos processos (ROY e MADRAS, 2015).

Nestes processos, a fotocatalise é mediada pela irradiação de luminosidade de alta energia em materiais semicondutores. Quando o material semicondutor é atingido pela radiação, ocorre a formação de um par elétron-buraco ( $e^-$ - $h^+$ ), que ataca a água ou o oxigênio adsorvidos na superfície do catalisador, formando radicais hidroxila e oxigênio ativado, agentes responsáveis pelo ataque oxidativo ao poluente, formando espécies oxidadas aniônicas (ex: o  $\text{NO}$  é transformado em  $\text{NO}_2^-$  e  $\text{NO}_3^-$ ) (DALTON et al., 2002).

O PCO pode ser aplicado para a oxidação de  $\text{NO}$  em  $\text{HNO}_3$  pelas reações em série:  $\text{NO} \rightarrow \text{HNO}_2 \rightarrow \text{NO}_2 \rightarrow \text{HNO}_3$ , a partir do mecanismo a seguir (LASEK et al., 2013):





#### 2.4.2 Catalisadores utilizados

Os processos de PCO geralmente fazem uso de materiais semicondutores na forma de óxidos como fotocatalisadores, por exemplo: trióxido de tungstênio ( $\text{WO}_3$ ), sulfeto de cádmio ( $\text{CdS}$ ), sulfeto de zinco ( $\text{ZnS}$ ), óxido de zinco ( $\text{ZnO}$ ) e dióxido de titânio ( $\text{TiO}_2$ ) (DEVAHASDIN et al., 2003). Os mais utilizados são o  $\text{TiO}_2$  e o  $\text{ZnO}$  por conta de sua alta capacidade fotocatalítica, baixo custo e estabilidade quando em contato com os outros compostos químicos do sistema fotocatalítico (WANG, et al, 2007).

Dentre os fotocatalisadores,  $\text{TiO}_2$  é o mais estudado e usado em diversas aplicações, majoritariamente por conta de seu forte potencial oxidativo, sua super hidrofiliabilidade, estabilidade química, baixo custo, transparência à luz visível e a não apresentação de toxicidade (NAKATA et al., 2012).

A estrutura cristalina do dióxido de titânio se apresenta principalmente em três fases: rutilo, anatase, e *brookita*. A baixa taxa de recombinação dos pares elétron-buraco da fase de anatase faz com que este seja um catalisador melhor se comparado com o rutilo (NEGISHI et al., 1998). Um experimento feito com  $\text{TiO}_2$  comercial apresentou boa performance do catalisador ao oxidar baixas concentrações (sub-ppm) de  $\text{NO}_x$ . A prática consistiu em misturar dióxido de titânio fisicamente com carvão ativado, onde os autores propuseram que o NO se aproxima da superfície do catalisador e rapidamente produz  $\text{HNO}_3$  e o subproduto  $\text{NO}_2$ , tal que o carvão ativado captura o subproduto e o retém, fornecendo ao  $\text{TiO}_2$  tempo suficiente para terminar a oxidação, gerando ácido nítrico (IBUSUKI et al., 1994).

O mecanismo básico da fotocatalise por dióxido de titânio segue da seguinte forma: radiação UV incide no material e causa a formação de pares elétron – buraco, cujas cargas fazem com que reajam com espécies químicas como água e oxigênio no ar para produzir radicais hidroxila ( $\text{OH}$ ) e ânions superóxido ( $\text{O}_2^-$ ) respectivamente (FUJISHIMA et al., 1999).

Na TABELA 4 estão listados os fotocatalisadores a base de  $\text{TiO}_2$  mais apropriados para a aplicação de PCO's a poluentes inorgânicos como o  $\text{NO}_x$  (BOYJOO, et al, 2017).

TABELA 4 - FOTOCATALISADORES A BASE DE TiO<sub>2</sub> PARA A OXIDAÇÃO FOTOCATALÍTICA DE POLUENTES INORGÂNICOS

Fotocatalisador	Poluente	Fonte luminosa	Reator	Condição do reator	Performance
TiO <sub>2</sub> anatase suportado em nanofibras poliméricas	NO <sub>x</sub>	UV365 com 1,0 mW/cm <sup>2</sup>	Reator contínuo tubular	1 ppm de NO em ar com 50% umidade relativa	Aproximadamente 16% de conversão do NO
TiO <sub>2</sub> deficiente em oxigênio	NO	Luz visível a 35,8 mW/cm <sup>2</sup>	Reator contínuo	400 ppm de NO com 55% umidade relativa a um fluxo de 1,2 L/min	Cerca de 75% de remoção de NO
Fe/TiO <sub>2</sub>	NO <sub>x</sub>	Luz visível (420 – 700 nm) com 35,8 mW/cm <sup>2</sup>	Reator contínuo de leito fixo	400 ppb de NO a um fluxo de 1,2 L/min e 55% umidade relativa	Maior conversão de NO <sub>x</sub> (38%) na amostra contendo 0,1% Fe
Nanotubos de TiO <sub>2</sub> dopado com molibdênio	NO <sub>2</sub>	UVA365 a 1,25 mW/cm <sup>2</sup>	Reator contínuo	NO a 400 mL/min e 55% umidade relativa	77% de remoção do NO <sub>x</sub>
TiO <sub>2</sub> dopado com Pt	NO <sub>x</sub>	UVA365 com 1,6 mW/cm <sup>2</sup> e luz visível a 420 nm com 0,7 mW/cm <sup>2</sup>	Reator retangular de quartzo	NO em N <sub>2</sub> e ar úmido a aproximadamente 40 ppm e 70% umidade relativa com uma vazão de 200 mL/min	0,4% Pt apresentou cerca de 30% de conversão do NO em comparação a 5% do P25 em luz visível
Au/CeO <sub>2</sub> -TiO <sub>2</sub>	NO	UV ou luz visível	Reator contínuo	500 ppb de NO com 83% umidade relativa e uma vazão de 4,0 L/min	83% de conversão do NO em comparação com 48% com TiO <sub>2</sub> puro
TiO <sub>2</sub> modificado em tinta	NO	Lâmpada de Xe a 300 W	Reator de leito fixo	1000 ppm de NO, 1000 ppm de NH <sub>3</sub> , e O <sub>2</sub> a 500 mL/min	99% de conversão do NO com 99% de seletividade para o N <sub>2</sub>
Filme de TiO <sub>2</sub> suportado em complexo de cobalto imidazol	NO <sub>x</sub> e CO	UV com 3,0 mW/cm <sup>2</sup>	Reator em batelada	1 ppm NO <sub>x</sub> e 50 ppm CO com 40% umidade relativa	Taxa de deterioração do NO <sub>x</sub> de 51% e 46% para o CO, maior que a do filme de TiO <sub>2</sub> sem modificações
Cu/TiO <sub>2</sub> suportado em nanotubos de carbono multi lamelares	SO <sub>2</sub> e NO	UV365 com 0,65 mW/m <sup>2</sup>	Reator contínuo de leito fixo	73 ppm NO, 155 ppm SO <sub>2</sub> em 8% O <sub>2</sub> e 5% H <sub>2</sub> O a 2 L/min	62% de remoção do SO <sub>2</sub> e 43% de remoção do NO

FONTE: BOYJOO et al., 2017

#### 2.4.3 Métodos de preparo de fotocatalisadores

Os principais métodos de imobilização de um catalisador em um suporte são: sol-gel, térmico, deposição de vapor químico, camada-por-camada, e deposição eletroforética (BOYJOO et al., 2017).

O método sol-gel é um método simples onde o suporte do catalisador é mergulhado em uma solução coloidal do catalisador, e em seguida submetido a calcinações em alta temperatura ( $> 450^{\circ}\text{C}$ ). Este método é muito empregado por conta de seu baixo custo e flexibilidade com vários formatos (SHAN et al., 2010). Recentemente, um método de suspensão a baixa temperatura ( $< 150^{\circ}\text{C}$ ) foi desenvolvido para poder ser aplicado a diversos substratos, como o alumínio, aço inox, fibras de vidro e monólitos de  $\text{Al}_2\text{O}_3$ . O método pode ser usado para preparar partículas estáveis e com camadas fotocatalíticas espessas e altamente ativas de diferentes partículas de catalisador (KETE, et al, 2014).

No método térmico, o catalisador é borrifado diretamente no suporte e submetido a um tratamento térmico. A performance do catalisador, de qualquer forma, é dependente da temperatura de calcinação, a qual influencia as propriedades físicas do semiconductor: fase cristalina, estrutura, área de superfície e capacidade de adsorção do oxigênio (YU, et al, 2000).

Na deposição de vapor químico, o suporte é exposto a uma atmosfera gasosa do precursor do catalisador a uma alta temperatura, que se decompõe na superfície do suporte (SHAN et al., 2010). Este método foi aplicado para a produção de  $\text{TiO}_2$  dopado com nitrogênio (DUNNIL et al., 2009).

O método de deposição camada por camada utiliza soluções coloidais do catalisador precursor para se mergulhar ou borrifar algumas vezes sobre o suporte até que uma camada de espessura desejada é obtida. O catalisador se prende ao suporte eletrostaticamente. Neste método, a espessura do catalisador pode ser facilmente controlada e as partículas do mesmo estão bem dispersas na matriz porosa, providenciando uma alta área de superfície e desprezando a necessidade de uma alta temperatura de calcinação (SHAN et al., 2010).

A técnica de deposição eletroforética utiliza o movimento de partículas carregadas em uma suspensão estável através da aplicação de um campo elétrico. Este método é ambientalmente compatível, possibilita o controle da espessura do filme de catalisador e pode ser usado em formas complexas (BOYJOO, et al, 2017).



### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Este item contempla os materiais e métodos utilizados para verificar a viabilidade da utilização de óxidos de nitrogênio ( $\text{NO}_x$ ) como fonte de nitrogênio para o crescimento de microalgas e a eficiência de biofixação de  $\text{NO}_x$  pela espécie de microalga selecionada, associada ou não a um sistema de fotocatalise.

Primeiramente, um teste preliminar ( $T_0$ ) foi realizado para selecionar a espécie de microalga mais adequada para os testes de eficiência de biofixação de  $\text{NO}_x$  em fotobiorreatores (FBR's) sob diferentes configurações ( $T_1, T_2, T_3$  e  $T_4$ ).

Em paralelo, um sistema associado de fotocatalise e de biofixação foi desenvolvido para a execução dos testes em que a mistura gasosa foi submetida a um pré-tratamento por fotocatalise em um reator de fotocatalise usando dióxido de titânio ( $\text{TiO}_2$ ) suportado em microesferas de vidro como catalisador.

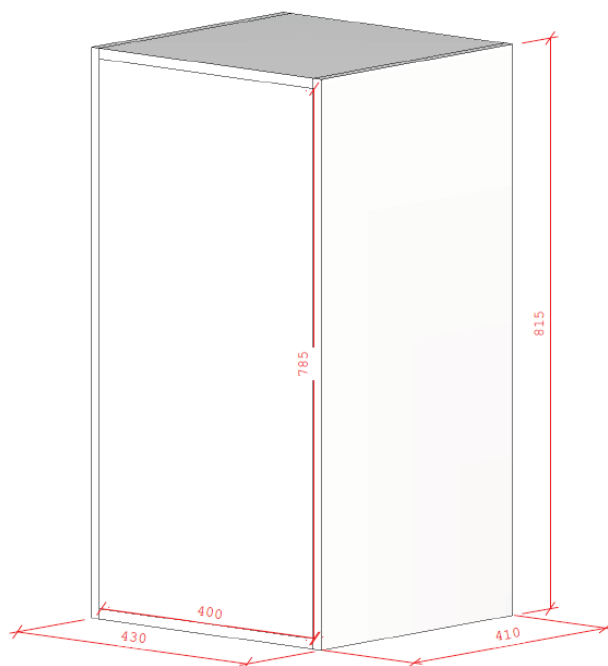
Após a definição da espécie de microalga, a construção do reator de fotocatalise e o preparo do catalisador, os testes em diferentes configurações para avaliação da eficiência de remoção de  $\text{NO}_x$  por microalga foram executados.

#### 3.1 MONTAGEM DO REATOR DE FOTOCATÁLISE

Um sistema associado de fotocatalise e de biofixação de emissões através do cultivo de microalgas foi desenvolvido com o intuito de avaliar a eficiência de biofixação de óxidos de nitrogênio fazendo uso de um pré-tratamento catalítico das emissões de  $\text{NO}_x$  antes da entrada nos FBR's. Os leitos contendo catalisador foram montados dentro de uma caixa de MDF conforme FIGURA 7. Dentro da caixa foram instaladas seis lâmpadas ultravioletas (modelo: Philips TL-K 40W/10R) com comprimento de onda entre 350 e 400 nm. O diâmetro de cada lâmpada utilizada era de 39 mm e o comprimento das mesmas era de 603 mm. Entre as lâmpadas, com a ajuda de suportes, foram fixados seis tubos de quartzo com 290 mm de comprimento e diâmetros externos e internos, respectivamente, de 21 mm e 18 mm (FIGURA 8), que serviram como leito para o catalisador utilizado.

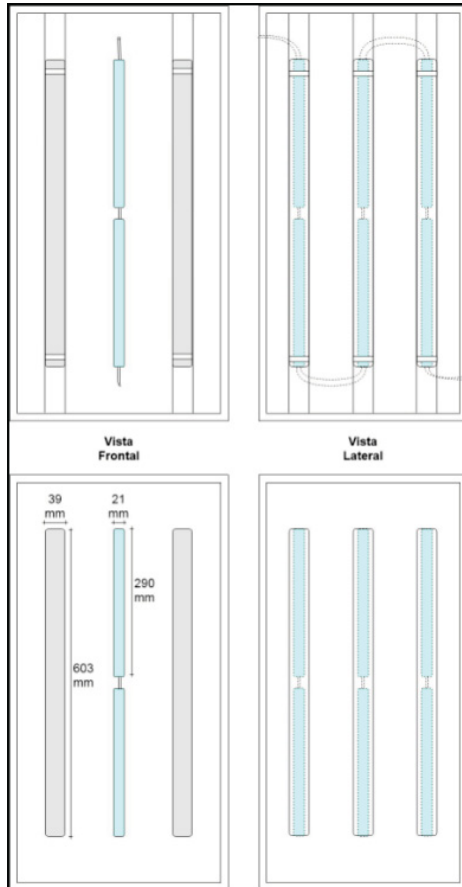


FIGURA 7 - DIMENSÕES DA CAIXA QUE COMPORTOU OS LEITOS DE FOTOCATÁLISE (EM MILÍMETROS).



FONTE: O autor (2018)

FIGURA 8 - VISTAS FRONTAL E LATERAL DO REATOR DE FOTOCATÁLISE

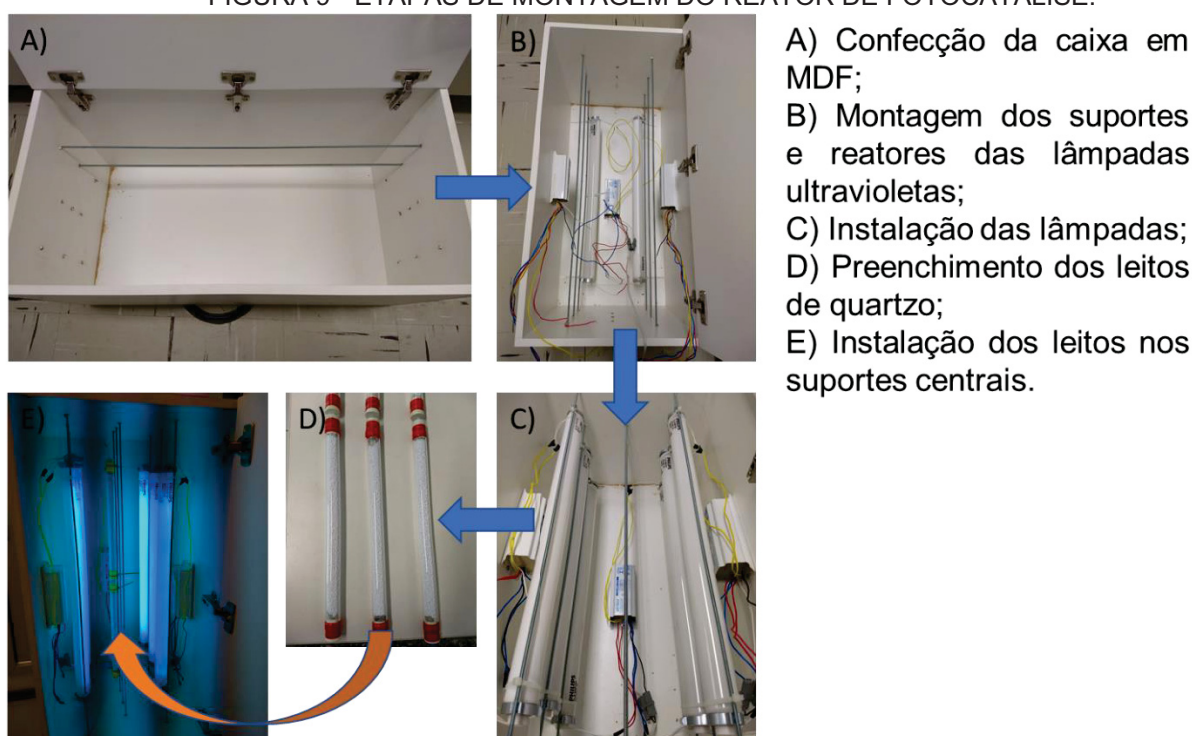


FONTE: O autor (2018)

Os leitos foram ligados em série para a passagem da mistura gasosa, como pode ser visto no detalhe da vista lateral da FIGURA 8. A ligação entre um leito e outro foi feito utilizando tubos de teflon de 6 mm conectando as entradas e saídas dos leitos.

O reator obtido comportou seis leitos de quartzo contendo cerca de 500 g ao todo de catalisador suportado em microesferas de vidro. A caixa em MDF foi produzida sob medida e fornecida com tampo e dobradiças que facilitaram o acesso aos componentes instalados no interior do reator. Na FIGURA 9 estão descritas as etapas de montagem do reator de fotocatalise.

FIGURA 9 - ETAPAS DE MONTAGEM DO REATOR DE FOTOCATÁLISE.



FONTE: O autor (2018)

Para a montagem dos suportes das lâmpadas e dos leitos foi utilizado tarugos rosqueados que foram fixados com porca e arruela em furações feitas na parte superior e inferior da caixa em MDF.

Nas ligações das lâmpadas ultravioletas foram utilizados 3 reatores eletrônicos 2x40W bivolt e cabeamentos para as ligações elétricas. Todo o cabeamento foi fixado nas paredes da caixa em MDF e o cabo de alimentação repassado para o lado de fora da caixa. As lâmpadas foram fixadas aos suportes com a ajuda de abraçadeiras e fita de nylon.

Os leitos de quartzo foram fechados e vedados com rolha de borracha e fita “*silver tape*®”. A fixação nos suportes também foi realizada com a ajuda de fita de nylon.

### 3.1.1 Preparo do catalisador

O catalisador utilizado para os experimentos foi o dióxido de titânio ( $\text{TiO}_2$ ) em sua forma comercial, P25 Degussa, fornecida pela empresa Evonik (Aeroxide®  $\text{TiO}_2$  P25). Este catalisador consiste de um pó fino branco de caráter hidrofílico e com partículas primárias de diâmetro médio em torno de 21 nm. Este tamanho de partícula e uma densidade de  $4 \text{ g/cm}^3$  levam a uma superfície específica de aproximadamente  $50 \text{ m}^2/\text{g}$ .

Este catalisador foi fixado sobre microesferas de vidro de precisão com 2 mm de diâmetro. As esferas foram fornecidas em vidro soda-cal inerte com 80% de esfericidade.

O preparo do catalisador sobre o suporte seguiu as etapas descritas abaixo.

- I. Preparo das soluções de limpeza da superfície das microesferas: uma solução de ácido clorídrico (HCl) a  $2 \text{ mol/L}$  e uma solução de hidróxido de sódio (NaOH) a  $4 \text{ mol/L}$  foram preparadas.
- II. Limpeza química do suporte: foram pesados aproximadamente 500 g de microesferas de vidro que então foram submetidas a um banho ultrassônico com a solução de HCl, seguido de outro banho com a solução de NaOH. A quantidade das soluções utilizadas foi o suficiente para submergir as esferas completamente. O tempo de cada banho foi de 30 minutos.
- III. Preparo da solução de catalisador: pesou-se aproximadamente 8 g de dióxido de titânio P25 Degussa em pó e diluído em 300 mL de álcool etílico a 98%. A solução foi deixada em agitação magnética por 30 minutos.
- IV. Deposição e secagem do suporte: os suportes foram removidos do banho de ultrassom e então dispostos em uma placa de Petri, onde a solução de catalisador foi despejada sobre as esferas de forma que toda a superfície das esferas fossem cobertas. A placa de Petri foi levada para a estufa a  $110^\circ\text{C}$  por 60 minutos para a evaporação do etanol.
- V. Calcinação do catalisador: as esferas foram transferidas da placa de Petri para uma cápsula de porcelana e então calcinadas em um forno mufla a  $450^\circ\text{C}$

durante duas horas, sendo que a primeira hora foi utilizada para elevar a temperatura do forno até os 450°C gradativamente (aproximadamente 7°C por minuto).

- VI. Repetições: após a calcinação as esferas eram pesadas para que se tivesse controle da quantidade de catalisador depositado sobre o suporte e os passos III a V eram repetidos até que a massa desejada de catalisador fosse depositada sobre a superfície do suporte.

Esta metodologia de preparo do catalisador proporcionou a imobilização de 10,221 g de  $\text{TiO}_2$  na superfície das microesferas de vidro. Com essa massa e considerando a área específica de 50  $\text{m}^2/\text{g}$ , a área disponível para as reações de fotocatalise ficou próxima de 511  $\text{m}^2$ .

O uso de hidróxido de sódio e do ácido clorídrico para a lavagem dos suportes (microesferas de vidro) proporcionou uma superfície neutra e levemente rugosa que melhorou o processo de adesão do  $\text{TiO}_2$ . Apesar disso, percebeu-se que houve um pouco de perda do catalisador aderido entre os processos de transferência da cápsula de porcelana para os tubos de quartzo. Estas perdas não foram contabilizadas, mas estima-se que, por se tratar de um pó extremamente fino e de baixa densidade, não houve comprometimento significativo da massa final obtida. As etapas seguidas até a obtenção do produto final podem ser visualizadas na FIGURA 10. As etapas “b” e “c” mostradas na FIGURA 10 foram repetidas por 5 vezes no período de uma semana até se obter a massa mencionada.

FIGURA 10 - ETAPAS DE PREPARO DO CATALISADOR SUPORTADO EM MICROESFERAS

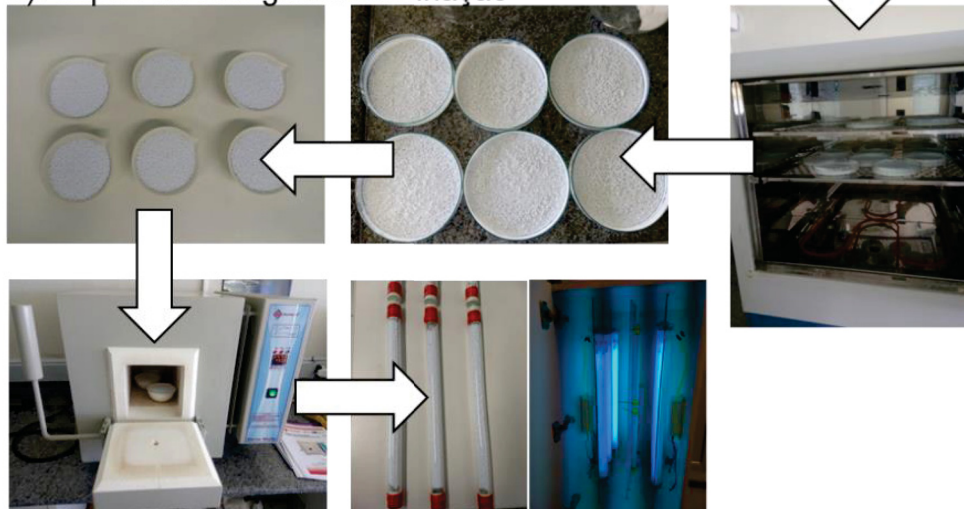
a) Lavagem com HCl 2 mol/L e NaOH 4 mol/L



b) Preparo da solução alcoólica de catalisador



c) Etapas de secagem e calcinação



FONTE: O autor (2018)

### 3.2 CONFIGURAÇÃO E OPERAÇÃO DOS FOTOBIOREATORES (TESTES $T_0$ , $T_1$ , $T_2$ , $T_3$ E $T_4$ )

Os sistemas de alimentação de gases utilizados para os testes preliminares ( $T_0$ ) são diferentes do sistema usado para os testes principais ( $T_1$ ,  $T_2$ ,  $T_3$  e  $T_4$ ) de avaliação da eficiência de biofixação de óxidos de nitrogênio. As condições de operação para os diferentes testes são descritos a seguir.

Os arranjos experimentais foram configurados da seguinte forma:

- Teste preliminar ( $T_0$ ) – seleção, dentre três espécies, da microalga mais adequada para utilização nos testes de análise da eficiência de biofixação de óxidos de

nitrogênio. Nestes testes, utilizou-se testes controles (fonte comum de nitrogênio –  $\text{NaNO}_3$ ) e testes com injeções intermitentes de 20 ppm de NO e 5% de  $\text{CO}_2$ ;

- Teste controle ( $T_1$ ) – fonte comum de nitrogênio ( $\text{NaNO}_3$ ) fornecida através do preparo do meio de cultivo e concentração de 5% de  $\text{CO}_2$  fornecido através da injeção de gás;
- Teste com injeção de NO ( $T_2$ ) – análise experimental de fixação e eficiência de biofixação de óxidos de nitrogênio pela espécie selecionada numa concentração de 50 ppm de NO e 5% de  $\text{CO}_2$ ;
- Teste com fotocatálise ( $T_3$ ) – análise experimental de fixação e eficiência de biofixação de óxidos de nitrogênio pela espécie selecionada numa concentração de 50 ppm de NO e 5% de  $\text{CO}_2$ . Neste teste, a corrente contendo a mistura gasosa com os 50 ppm de NO foi inicialmente injetada no sistema de fotocatálise com o intuito de converter, por oxidação, o NO em  $\text{NO}_2$  para em seguida seguir para os FBR's;
- Teste com injeção de  $\text{NO}_2$  ( $T_4$ ) – análise experimental de fixação e eficiência de biofixação de óxidos de nitrogênio pela espécie selecionada numa concentração de 50 ppm de  $\text{NO}_2$  e 5% de  $\text{CO}_2$ .

A TABELA 5 resume as condições iniciais para cada um dos testes realizados. Toda injeção de gás foi realizada, fazendo-se uso de cilindros comerciais com concentrações conhecidas e, a partir destes, através do sistema de diluição montado, obteve-se as concentrações desejadas para cada um dos testes.

TABELA 5 - CONDIÇÕES INICIAIS PARA OS TESTES REALIZADOS

Teste	Meio BBM	$[\text{NO}_x]$ ppm	$[\text{Biomassa}]_{\text{inicial}}$ $\text{g.L}^{-1}$	$[\text{Celular}]_{\text{inicial}}$ $\text{cél.mL}^{-1} (\times 10^4)$	$\text{pH}_{\text{inicial}}$
$T_0$	<i>C. vulgaris</i>	modificado	20	0,100	7,5
	<i>S. subspicatus</i>	modificado	20	0,100	7,5
	<i>H. pluvialis</i>	modificado	20	0,050	7,5
$T_1$	Controle	padrão	-	0,127	6,96
$T_2$	NO	modificado	50	0,098	6,47
$T_3$	Fotocatálise	modificado	50	0,098	6,52
$T_4$	$\text{NO}_2$	modificado	50	0,114	6,97

FONTE: O autor (2018)

### 3.2.1 Teste preliminar ( $T_0$ ) – seleção da espécie de microalga

Antes de iniciar o teste preliminar ( $T_0$ ), as culturas de *Chlorella vulgaris* (CV), *Haematococcus pluvialis* (HP) e *Scenedesmus subspicatus* (SS) foram propagadas e mantidas em meio sintético BBM (*Bold's Basal Medium*) padrão. Na TABELA 6 está



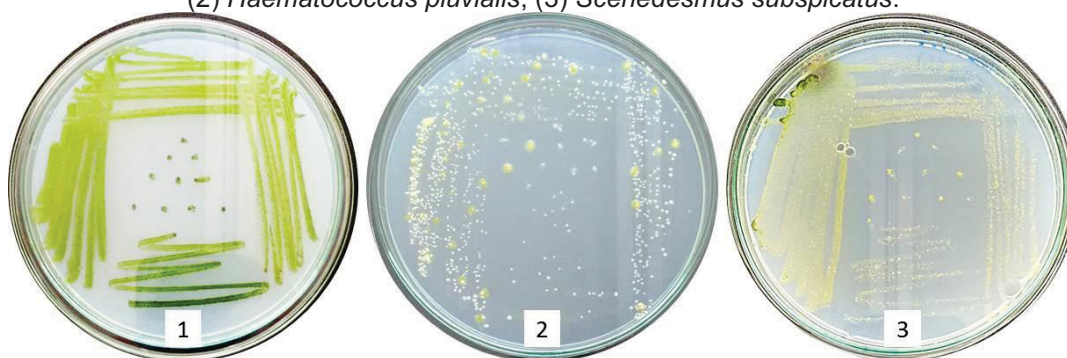
descrita a composição do meio sintético BBM padrão. As condições ambientais utilizadas foram 22°C, fotoperíodo de 24h e 1000 lux de luminosidade. As amostras de microalgas preservadas podem ser visualizadas na FIGURA 11. Estas cepas foram adquiridas junto ao banco de cepas da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar).

TABELA 6 - CONCENTRAÇÕES DOS COMPONENTES DO MEIO BBM.

COMPONENTES	CONCENTRAÇÕES (mol.L <sup>-1</sup> )
NaNO <sub>3</sub>	2,94.10 <sup>-3</sup>
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	3,04.10 <sup>-4</sup>
NaCl	4,28.10 <sup>-4</sup>
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	4,31.10 <sup>-4</sup>
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1,29.10 <sup>-3</sup>
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	1,70.10 <sup>-4</sup>
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	3,07.10 <sup>-5</sup>
MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	7,28.10 <sup>-6</sup>
MoO <sub>3</sub>	4,93.10 <sup>-6</sup>
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	6,29.10 <sup>-6</sup>
Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	1,68.10 <sup>-6</sup>
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	1,85.10 <sup>-4</sup>
EDTA.Na <sub>2</sub>	1,71.10 <sup>-4</sup>
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	1,79.10 <sup>-5</sup>

FONTE: O autor (2018)

FIGURA 11 - PLACAS DE PETRI CONTENDO AS CEPAS DE MICROALGAS: (1) *Chlorella vulgaris*; (2) *Haematococcus pluvialis*; (3) *Scenedesmus subspicatus*.



FONTE: O autor (2018)

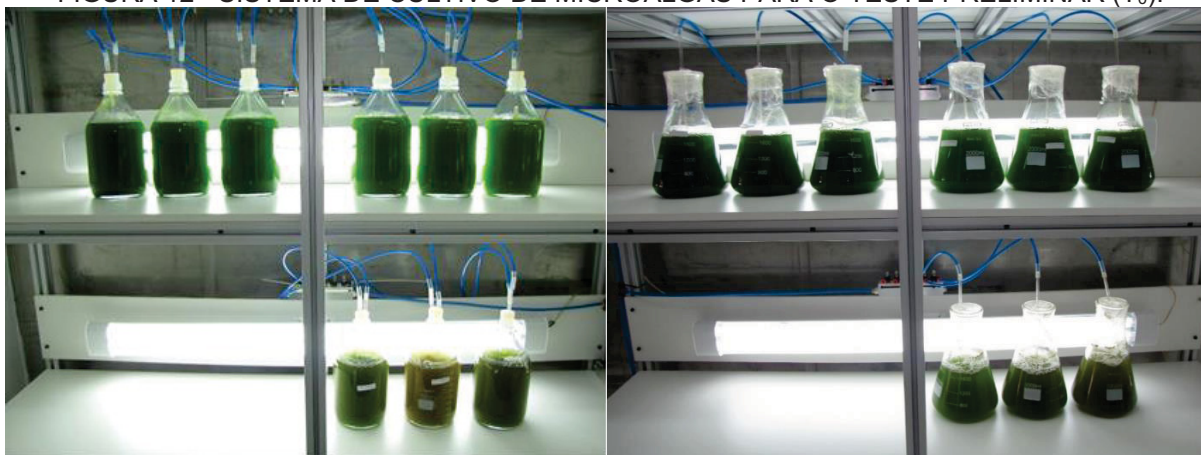
Os experimentos com injeção de gás sintético do teste preliminar (T<sub>0</sub>) foram realizados em frascos reagentes com injeção de gás no seu interior utilizando pedras porosas de aquário de 3 cm posicionadas no fundo de cada frasco. Estes frascos reagentes são construídos em vidro borossilicato, com diâmetro externo de 136 mm e uma altura de 265 mm, perfazendo um volume útil de 2000 mL. Os frascos utilizados para os experimentos controle foram frascos Erlenmeyer de vidro borossilicato, com diâmetro externo da base de 165 mm e uma altura de 284 mm, perfazendo um volume

útil de 2000 mL. Todos os frascos foram selados com tampões de borracha com duas portas (uma para entrada da corrente gasosa e outra para saída).

Todas as prateleiras contendo os FBR's foram montadas com duas lâmpadas fluorescentes tubulares (modelo: Ourolux T8 32W) com comprimento de 121,4 cm.

O meio de crescimento para os testes com injeção de gás sintético (ar sintético + NO + CO<sub>2</sub>) foi modificado para assegurar que todo nitrogênio assimilado pelas células de algas fosse fornecido através do NO da corrente gasosa. Para tanto, os componentes com nitrato presentes na TABELA 6 não foram incluídos na forma modificada dos meios usados nos FBR's. Os sistemas de cultivo de injeção de gás e os controles podem ser visualizados na FIGURA 12.

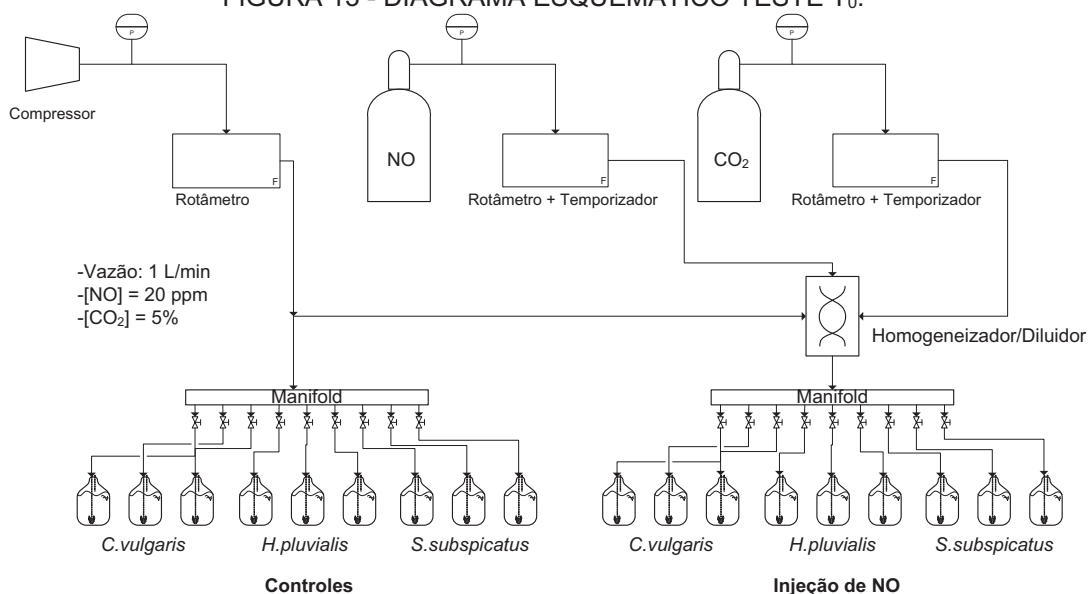
FIGURA 12 - SISTEMA DE CULTIVO DE MICROALGAS PARA O TESTE PRELIMINAR (T<sub>0</sub>).



FONTE: O autor (2018)

O sistema de injeção de ar foi realizado através de uma linha de ar comprimido alimentada por um compressor de pistão, isento de óleo, com potência do motor de 5 Hp, pressão máxima de operação de 120 psi e volume do reservatório de 250 L. O NO e o CO<sub>2</sub> foram fornecidos através de cilindros comerciais e levados até o laboratório através de uma linha de gás. O gás injetado nos cultivos foi composto por uma mistura do ar comprimido e das duas linhas de gás sintético (NO e CO<sub>2</sub>) numa proporção que gerou as concentrações de 20 ppm de NO e 5% de CO<sub>2</sub>. A concentração dos gases NO e CO<sub>2</sub> nos cilindros eram, respectivamente, de 200 ppm e 50%. A FIGURA 13 apresenta o esquema montado para a distribuição dos gases nos cultivos de microalgas.



FIGURA 13 - DIAGRAMA ESQUEMÁTICO TESTE T<sub>0</sub>.

FONTE: O autor (2018)

Os testes com injeção de gás sintético (ar sintético + NO + CO<sub>2</sub>) foram realizados em triplicatas para cada espécie de microalga, totalizando um total de nove experimentos. A temperatura ambiente da sala de cultivo foi mantida em 22°C. O volume de trabalho dos frascos foi de 1,8 L de meio sintético BBM modificado, com injeção contínua de 1 L.min<sup>-1</sup> de ar comprimido e injeção de gás sintético na vazão de 0,1 L.min<sup>-1</sup>, com pulsos de 1 minuto de injeção de gás sintético a cada 19 minutos de injeção de ar atmosférico para cada fotobiorreator. Os pulsos de NO e CO<sub>2</sub> foram controlados por válvulas solenóides e um temporizador pré-programado com os tempos de injeção e intervalos.

Os testes de controle, ou seja, experimentos realizados apenas com a injeção de ar atmosférico, também foram realizados em triplicatas para cada espécie de microalga, totalizando um total de nove experimentos. As condições do experimento foram as mesmas das realizadas com injeção de gás sintético.

Todas as vidrarias, tubos e meios de cultivo utilizados foram previamente autoclavados a 125°C por 90 minutos antes do início dos experimentos

Diariamente foram coletadas amostras dos cultivos para análise da absorbância, crescimento celular, comportamento do pH e produção de biomassa seca.

a) Análise de absorbância

Uma amostra líquida foi retirada diariamente de cada fotobiorreator, homogeneizada e transferida para a cubeta de um espectrofotômetro (modelo: Kasuaki, IL 226) previamente ajustado no comprimento de onda de 670 nm. Uma curva de calibração foi previamente gerada com concentrações conhecidas das microalgas. Todas as leituras foram realizadas em triplicata para posterior obtenção da média e dos desvios padrões.

b) Análise de crescimento celular

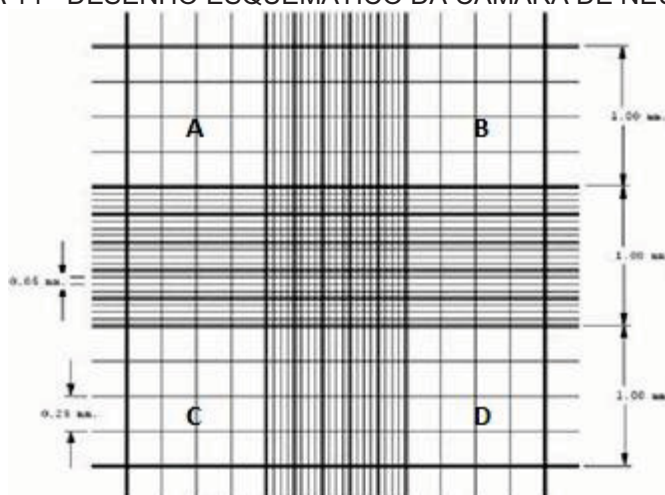
As contagens de células foram feitas uma vez ao dia utilizando uma câmara de Neubauer. Uma amostra líquida foi retirada de cada fotobiorreator, homogeneizada, e, com a ajuda de uma pipeta, uma pequena alíquota dessa amostra era adicionada sob uma lamínula previamente colocada sobre a câmara de contagem. Após as células sedimentarem, focalizava-se a área demarcada da câmara de contagem e iniciava-se a contagem das células nas quatro áreas da câmara, seguindo o esquema da FIGURA 14.

Para se inferir a concentração celular pelo método da câmara de Neubauer, foi utilizada a Equação (15):

$$C \left( \frac{\text{células}}{\text{mL}} \right) = 10000 \cdot \frac{N}{4} \quad (15)$$

onde N é igual as células contadas nos quatro quadrantes da câmara.

FIGURA 14 - DESENHO ESQUEMÁTICO DA CÂMARA DE NEUBAUER.



FONTE: Adaptado de Protocolo3 (2018)

Caso houvesse necessidade de diluição da amostra em função da alta concentração de células, o número de células contadas era igualmente multiplicado pelo fator de diluição utilizado.

#### c) Análise de pH

Na mesmas amostras retiradas diariamente de cada fotobiorreator para medida de absorbância e contagem celular, o pH foi medido fazendo uso de um pHmetro digital (modelo: Hanna, HI 2221). Três medidas foram feitas para obter uma média e o desvio das leituras. Antes do uso, o pHmetro foi calibrado com soluções tampões 4,0, 7,0 e 10,0.

#### d) Análise de produção de biomassa seca

Para a determinação da biomassa seca ( $\text{g.L}^{-1}$ ), diariamente foi coletado um volume útil dos FBR's para a quantificação em triplicata. Foram utilizados microfiltros de fibra de vidro (Macherey-Nagel GF-1), diâmetro de 47 mm para filtração utilizando bomba a vácuo. Primeiramente, os microfiltros foram mantidos em estufa a 60 °C por 24h. Em seguida a massa dos microfiltros secos era aferida. Para aferir a massa dos microfiltros foi utilizada uma balança analítica com precisão de 0,1 mg. Três amostras de 10 mL dos cultivos foram filtradas separadamente. Os microfiltros com as amostras eram levados à estufa a temperatura de 60 °C até atingirem massa constante. Após

atingirem o peso constante (aproximadamente 24h), os papéis eram cuidadosamente retirados da estufa e colocados no dessecador. Com auxílio de uma bomba a vácuo, o ar presente era removido do dessecador, para que os resultados não fossem influenciados pela umidade. Ao retirar as amostras do dessecador, as massas dos microfiltros com a biomassa eram aferidas e a determinação da biomassa seca em  $g.L^{-1}$  era determinada de acordo com a Equação (16), por meio da diferença da massa dos microfiltros antes e depois da filtração.

$$BS \left( \frac{g}{L} \right) = \frac{F_2 - F_1}{V} \quad (16)$$

em que:

BS = biomassa seca da amostra ( $g.L^{-1}$ );

$F_1$  = massa do microfiltro seco (g);

$F_2$  = massa do microfiltro com biomassa seca (g);

V = volume de cultivo filtrado (L).

Além disso, a produtividade média diária foi calculada a partir dos valores de biomassa seca obtidos por gravimetria. Para tanto, utilizou-se a Equação (17) (Radmann et al., 2011).

$$P (g.L^{-1}.d^{-1}) = \frac{X_t - X_0}{t - t_0} \quad (17)$$

em que:

P = produtividade média diária ( $g.L^{-1}.d^{-1}$ );

$X_t$  = concentração de biomassa no dia t ( $g.L^{-1}$ );

$X_0$  = concentração de biomassa no dia  $t_0$  ( $g.L^{-1}$ );

$t - t_0$  = intervalo considerado para obtenção da produtividade (dias)

### 3.2.2 Testes para análise da eficiência de biofixação de $\text{NO}_x$ - $T_1$ , $T_2$ , $T_3$ e $T_4$

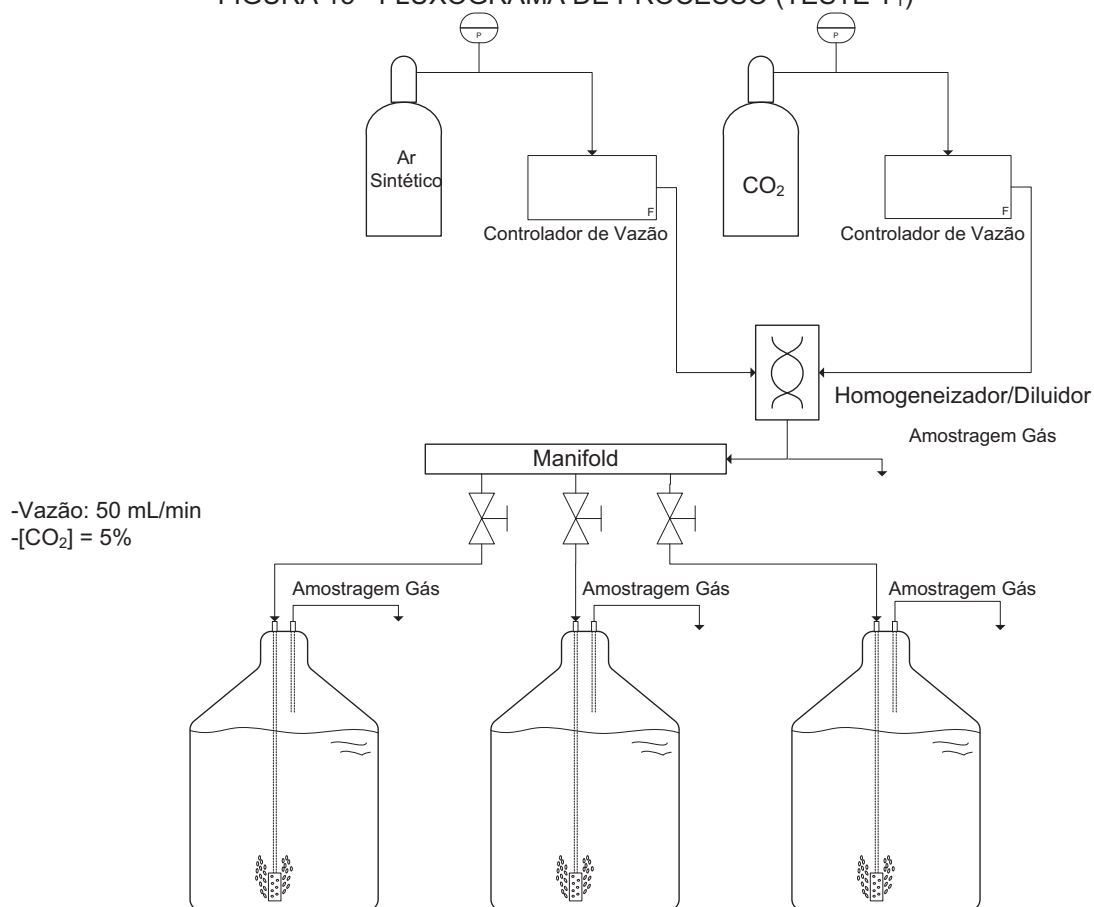
Os testes  $T_1$ ,  $T_2$ ,  $T_3$  e  $T_4$  foram realizados em frascos reagentes com injeção de gás no seu interior utilizando pedras porosas de aquário de 3 cm no fundo de cada frasco. Estes frascos reagentes são os mesmos utilizados no teste  $T_0$ , perfazendo um volume útil de 2000 mL. Todos os frascos foram selados com tampões de borracha com duas portas (uma para entrada da corrente gasosa e outra para saída).

Todas as vidrarias, tubos e meios de cultivo utilizados, assim como no teste  $T_0$ , foram previamente autoclavados a  $125^\circ\text{C}$  por 90 minutos antes do início dos experimentos.

Os frascos reagentes foram acomodados em uma capela com exaustor, para assegurar o escape dos gases para fora do ambiente de trabalho. A capela foi adaptada com duas lâmpadas LED tubulares T8, 18W e 6500 K (branca) com comprimento de 1,20 m.

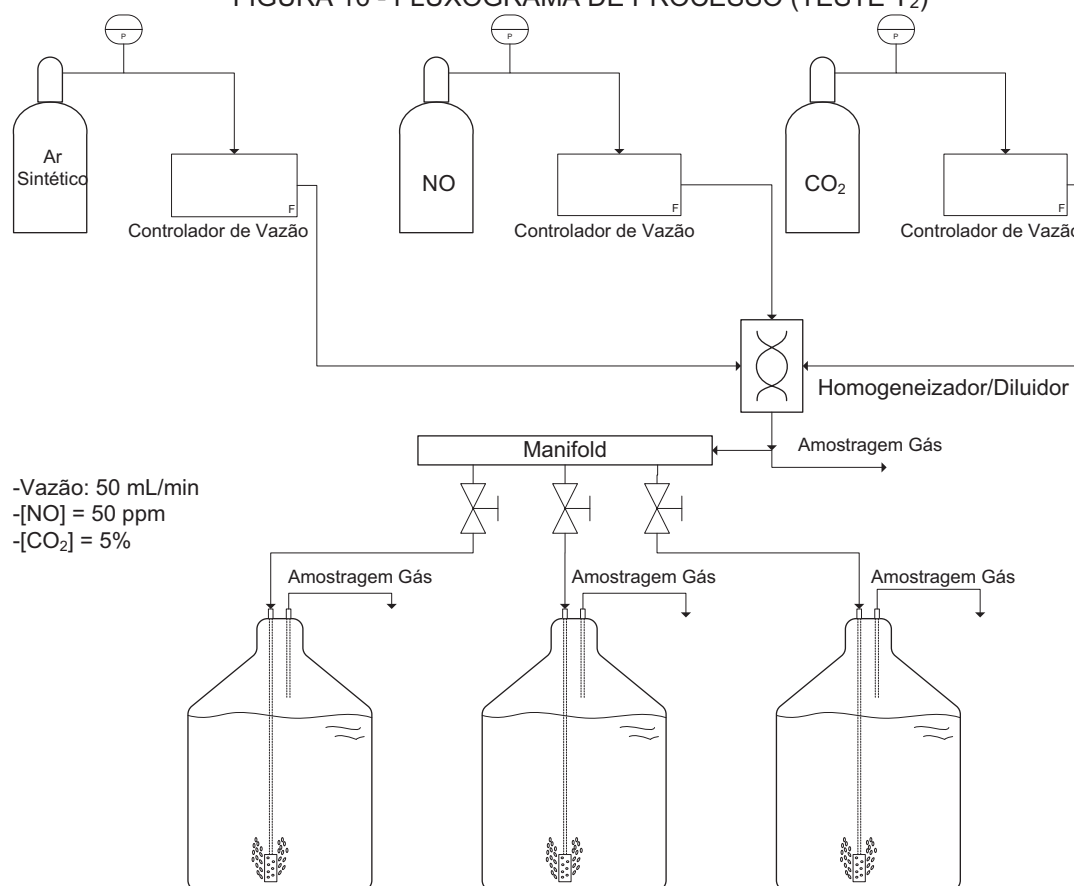
Os meios de crescimento para estes testes foram feitos com meio sintético BBM modificado, ou seja, sem a presença da fonte de nitrogênio comum ( $\text{NaNO}_3$ ), com exceção para o teste  $T_1$ , em que foi utilizado o meio sintético BBM padrão conforme descrito na TABELA 6, ou seja, com a fonte de nitrogênio proveniente do sal nitrato de sódio ( $\text{NaNO}_3$ ). A fonte de nitrogênio para os testes  $T_2$  e  $T_3$  foi o óxido de nitrogênio ( $\text{NO}$ ) e para o teste  $T_4$  foi o dióxido de nitrogênio ( $\text{NO}_2$ ), fornecidos através da mistura gasosa.

O sistema de injeção de gases para o teste  $T_1$  (ar sintético +  $\text{CO}_2$ ) foi composto por uma linha de gás alimentada por um cilindro de ar sintético zero 99,999% com composição de  $20 \pm 5\%$  Vol.  $\text{O}_2$  +  $\text{N}_2$  de balanço e uma linha de dióxido de carbono alimentada por um cilindro de  $\text{CO}_2$  a  $20 \pm 0,2\%$  Vol.  $\text{CO}_2$ . Cada uma das linhas estavam ligadas a um controlador de vazão mássico (Brooks Instrument; modelo: SLA5850S1HCF1C2A1) onde foram ajustadas as vazões de interesse para se alcançar uma concentração de 5% de  $\text{CO}_2$ . A vazão total de mistura a 5% de  $\text{CO}_2$  produzida foi de 150 mL/min. A corrente contendo esta mistura foi então direcionada para um “*manifold*” provido de válvulas que ajustaram a vazão em 50 mL/min para cada frasco reagente da triplicata. O período de teste foi de 15 dias com injeção da mistura, na vazão mencionada, 24h por dia e a temperatura foi mantida em  $22^\circ\text{C}$ . A FIGURA 15 apresenta o esquema montado para a distribuição dos gases nos cultivos de microalgas.

FIGURA 15 - FLUXOGRAMA DE PROCESSO (TESTE T<sub>1</sub>)

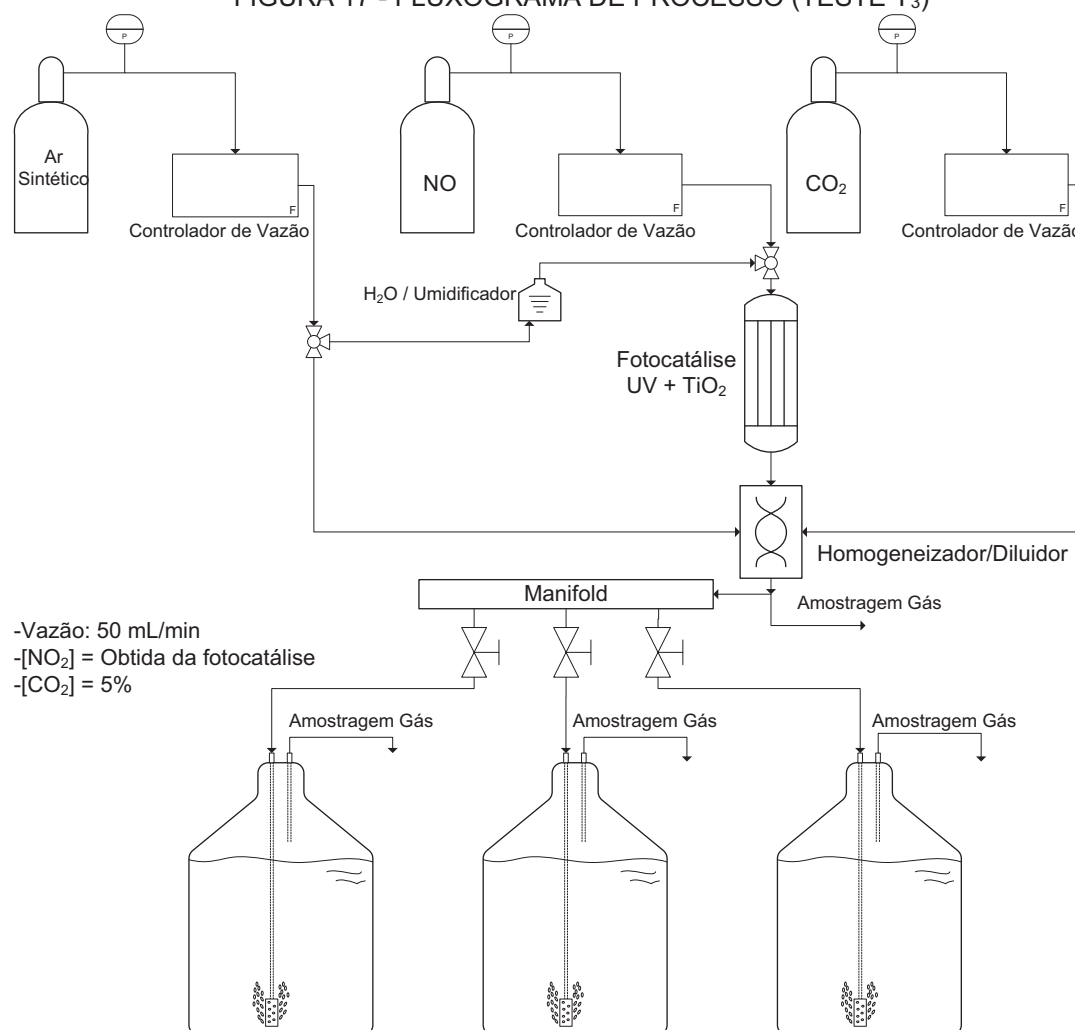
Fonte: O autor (2018)

Para o teste T<sub>2</sub> o sistema de injeção de gases (ar sintético + NO + CO<sub>2</sub>) foi composto pelas mesmas linhas de gases e controladores de vazão mássicos utilizados no teste T<sub>1</sub>, acrescentada de uma linha de gás padrão primário de NO a 400 ± 12 ppm, que era então diluída com as outras correntes gasosas para obter uma concentração de 50 ppm. A FIGURA 16 apresenta o esquema montado para a distribuição dos gases nos cultivos de microalgas.

FIGURA 16 - FLUXOGRAMA DE PROCESSO (TESTE T<sub>2</sub>)

Fonte: O autor (2018)

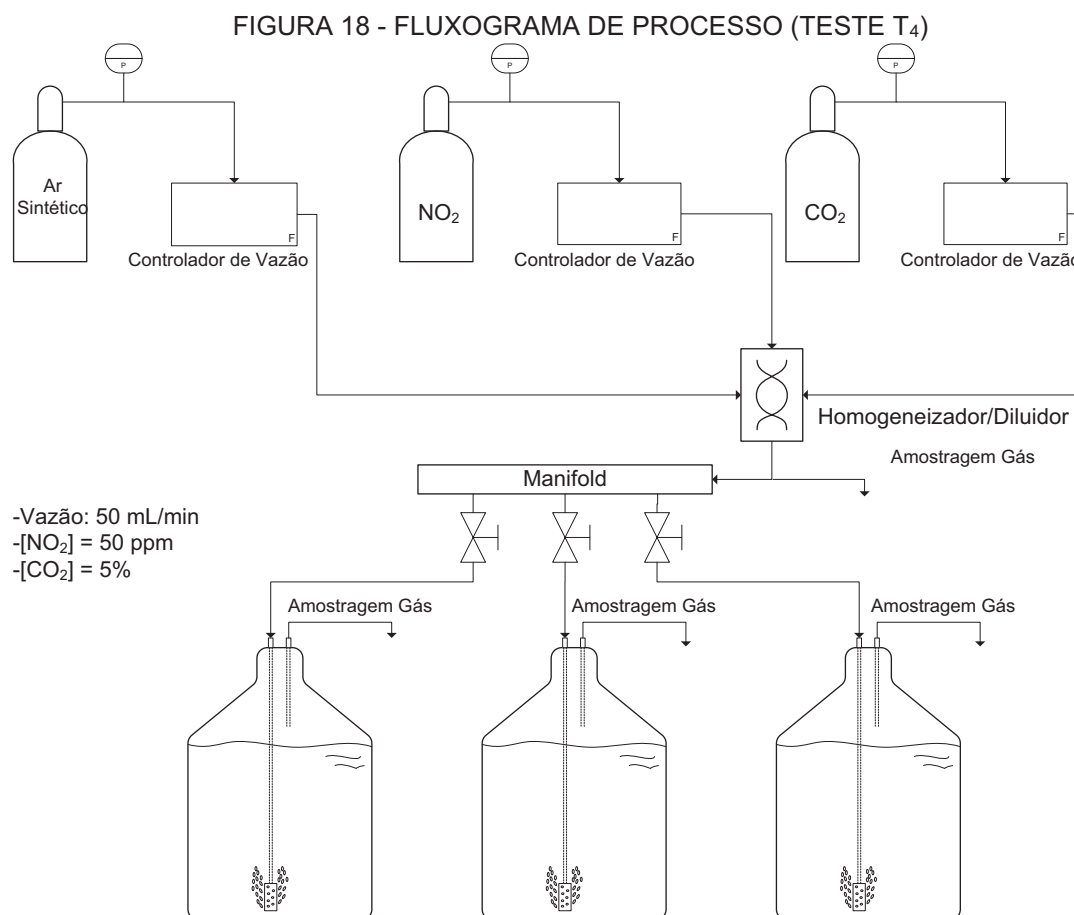
Para o teste T<sub>3</sub> o sistema de injeção de gases (ar sintético + NO + CO<sub>2</sub>) foi composto pelas mesmas linhas de gases e controladores de vazão utilizados no teste T<sub>2</sub>. Neste teste, parte do fluxo de ar sintético era desviado para um umidificador, para então se juntar ao fluxo de NO que era direcionado para o sistema de fotocatalise provido do leito catalítico e lâmpadas UV já descritos, com o intuito de converter por oxidação o NO a NO<sub>2</sub>. A corrente de saída da fotocatalise e a corrente de CO<sub>2</sub> eram conduzidas ao homogeneizador. A FIGURA 17 apresenta o esquema montado para a distribuição dos gases nos cultivos de microalgas.

FIGURA 17 - FLUXOGRAMA DE PROCESSO (TESTE T<sub>3</sub>)

Fonte: O autor (2018)

Para o teste T<sub>4</sub> o sistema de injeção de gases (ar sintético + NO<sub>2</sub> + CO<sub>2</sub>) foi composto pelas mesmas linhas de gases e controladores de vazão utilizados nos testes T<sub>2</sub> e T<sub>3</sub>, com a diferença que a linha de gás padrão primário era composta por NO<sub>2</sub> a  $400 \pm 12$  ppm, que era então diluída com as outras correntes gasosas para obter uma concentração de 50 ppm. A FIGURA 18 apresenta o esquema montado para a distribuição dos gases nos cultivos de microalgas.





Fonte: O autor (2018)

Como mencionado, os experimentos foram realizados em triplicata. A espécie utilizada para todos os testes foi a microalga *C. vulgaris*.

Diariamente foram coletadas amostras dos cultivos para análise da absorbância, crescimento celular, monitoramento do pH e produção de biomassa seca. Além disso, foi retirado diariamente 5 L de amostra de gás na entrada do “manifold” e na saída de cada um dos fotobiorreatores com a ajuda de bolsas Tedlar®. Em seguida essas bolsas eram levadas até um analisador de gases para a medida das concentrações de CO<sub>2</sub>, NO e NO<sub>2</sub>. Adicionalmente, no teste T<sub>3</sub> (com uso de fotocatalise), também foi coletado amostras de gás na saída do reator de fotocatalise, com o intuito de verificar a conversão de NO em NO<sub>2</sub>.

Para se chegar aos resultados de conversão de NO no teste T<sub>3</sub>, foi utilizada a Equação (18).

$$Convers\tilde{a}o_{NO} (\%) = \frac{[NO]_{ent} - [NO]_{saída}}{[NO]_{ent}} \times 100 \quad (18)$$

em que:

$[NO]_{ent}$  = concentração de NO na entrada do reator de fotoc t lise (ppm);

$[NO]_{saída}$  = concentração de NO na saída do reator de fotoc t lise (ppm);

A mesma lógica foi utilizada para os cálculos de eficiência de biofixa o de óxidos de nitrogênio ( $NO_x$ ) nos testes  $T_2$ ,  $T_3$  e  $T_4$ , como pode ser visto na Equa o (19).

$$Efici ncia\ de\ Biofixa o\ de\ NO_x(\%) = \frac{[NO_x]_{ent} - [NO_x]_{saída}}{[NO_x]_{ent}} \times 100 \quad (19)$$

em que:

$[NO_x]_{ent}$  = concentração de  $NO_x$  na entrada dos FBR's (ppm);

$[NO_x]_{saída}$  = concentração de  $NO_x$  na saída dos FBR's (ppm);

As medidas de concentra o dos gases foram realizadas com o analisador de gases modelo TESTO 350 do fabricante TESTO, que mede dióxido de carbono através de infravermelho e  $NO_x$  pelo princípio de células eletroquímicas. O analisador foi programado para 5 minutos de leitura, com suc o de 1 L/min. Os 2 primeiros minutos foram usados para estabiliza o da leitura, enquanto as últimas 3 leituras foram usadas para tirar uma média da concentra o. O analisador também foi verificado periodicamente, utilizando gases de calibra o para garantir a precisão dos dados coletados.

As análises da absorvância, crescimento celular e comportamento do pH foram feitas conforme procedimentos já descritos no subitem referente ao teste preliminar ( $T_0$ ), com exce o do modelo do espectrof t metro utilizado, que nestes testes foi o modelo SpectraMax<sup> </sup> M2 Molecular Devices. A análise de biomassa seca também foi feita conforme o mesmo procedimento utilizado no teste preliminar ( $T_0$ ), porém, a cada 2 dias.

### 3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As condições experimentais avaliadas foram executadas em triplicata, de forma que, dos resultados obtidos, pudessem ser retirados valores médios e desvios padrões. Com isso foi possível verificar as diferenças estatísticas entre os grupos experimentais através de uma análise de variância e comparações múltiplas de postos para todos os grupos pelo modelo de Kruskal-Wallis ANOVA. Ainda, nos testes preliminares ( $T_0$ ), foi usado o Teste-t para grupos independentes para verificar a diferença entre os grupos controle e os testes com injeção para a mesma espécie. Os testes de igualdade de variância que validaram o uso do Teste-t foram feitos pelo teste de Levene. Para o ajuste destes modelos foi utilizado o software *TIBCO Statistica*® versão 13.3.

Todos os testes foram realizados considerando-se um nível de significância de 95%. Nos testes em que  $p > 0,05$ , considerou-se não haver diferença significativa entre as médias das amostras. Do contrário, quando  $p < 0,05$ , havia diferença significativa entre as médias.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Este item contempla os resultados obtidos nos testes realizados para avaliar a viabilidade da utilização de emissões de NO<sub>x</sub> como fonte de nitrogênio para o crescimento de microalgas e a eficiência de biofixação de NO<sub>x</sub> pela espécie selecionada, associada ou não a um sistema de fotocatalise.

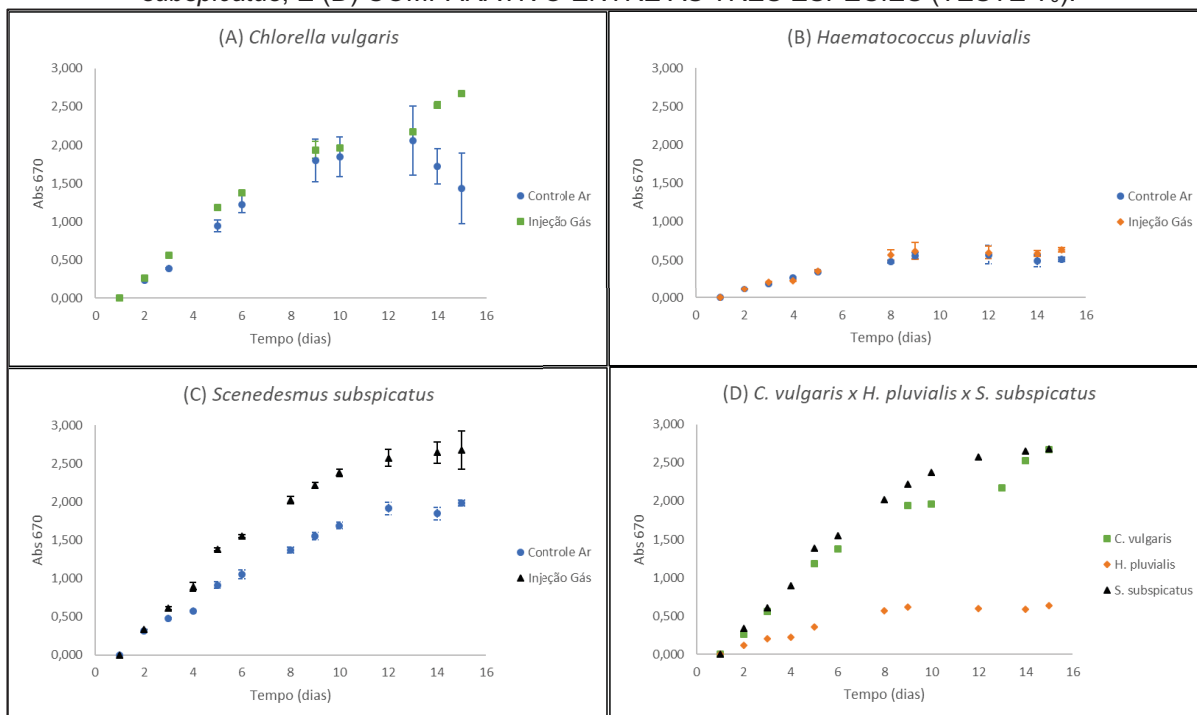
### 4.1 TESTE T<sub>0</sub> - SELEÇÃO DA ESPÉCIE DE MICROALGA

Com o objetivo de determinar a espécie de microalga que melhor se adaptava a presença de NO, as espécies *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus subspicatus* e *Haematococcus pluvialis* foram avaliadas em relação a absorbância, crescimento celular, pH do meio e produção de biomassa seca.

#### 4.1.1 Absorbância e Crescimento Celular

As medidas de concentração de células por absorbância (DO<sub>670nm</sub>), indicando de forma indireta o crescimento das três espécies quando expostas as concentrações de 20 ppm de NO e 5% de CO<sub>2</sub>, demonstraram que as espécies *C. vulgaris* e *S. subspicatus* apresentaram as maiores concentrações de células (FIGURA 19A, FIGURA 19B, FIGURA 19C e FIGURA 19D).

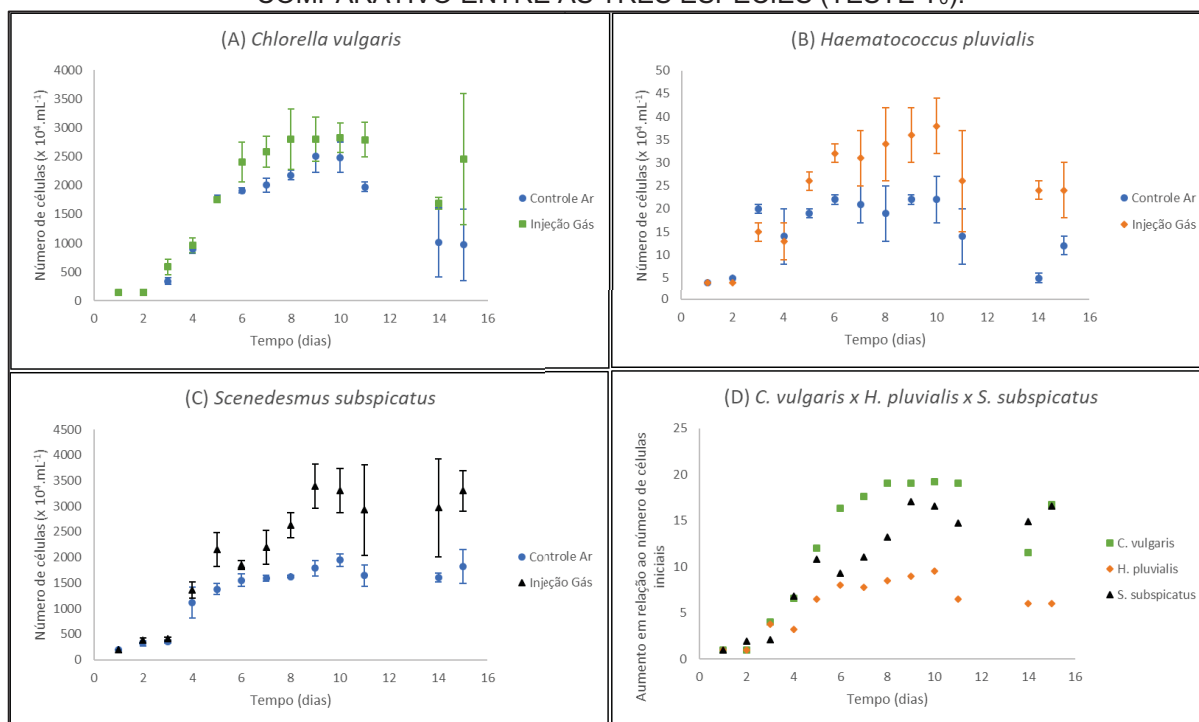
FIGURA 19 – ANÁLISE DE ABSORBÂNCIA (670 NM): (A) *C. vulgaris*; (B) *H. pluvialis*; (C) *S. subspicatus*; E (D) COMPARATIVO ENTRE AS TRÊS ESPÉCIES (TESTE T<sub>0</sub>).



FONTE: O autor (2018)

O mesmo foi observado quando se analisou diretamente o número de células por contagem ( $n^{\circ}$  de células.mL<sup>-1</sup>) (FIGURA 20A, FIGURA 20B, FIGURA 20C e FIGURA 20D). Os testes estatísticos de comparações múltiplas entre espécies, indicaram significativa diferença ( $p < 0,05$ ) para os crescimentos das espécies *C. vulgaris* e *S. subspicatus* quando comparado ao crescimento da espécie *H. pluvialis*, sugerindo melhor adaptação das espécies *C. vulgaris* e *S. subspicatus* às condições do teste. Comparando-se *C. vulgaris* com *S. subspicatus* o teste não indicou nenhuma diferença significativa ( $p > 0,05$ ), apontando não haver diferença na escolha entre essas duas espécies no que diz respeito ao crescimento celular.

FIGURA 20 - CRESCIMENTO CELULAR: (A) *C. vulgaris*; (B) *H. pluvialis*; (C) *S. subspicatus*; E (D) COMPARATIVO ENTRE AS TRÊS ESPÉCIES (TESTE T<sub>0</sub>).



FONTE: O autor (2018)

Os testes estatísticos realizados com o intuito de verificar diferenças entre os cultivos controle e os cultivos com injeção de gases para uma mesma espécie, indicaram haver diferença significativa ( $p < 0,05$ ) para as espécies *S. subspicatus* e *H. pluvialis* (FIGURA 20B e FIGURA 20C). Para estas espécies o crescimento celular foi maior nos testes com injeção de gases do que no controle. Para a espécie *C. vulgaris*, mesmo havendo um maior crescimento no teste com injeção de gases (FIGURA 20A), o teste estatístico não indicou uma diferença significativa com o controle ( $p > 0,05$ ). Isso corrobora com a hipótese de que as espécies estudadas são capazes de se desenvolver quando cultivadas na presença de CO<sub>2</sub> e NO como fontes de carbono e nitrogênio.

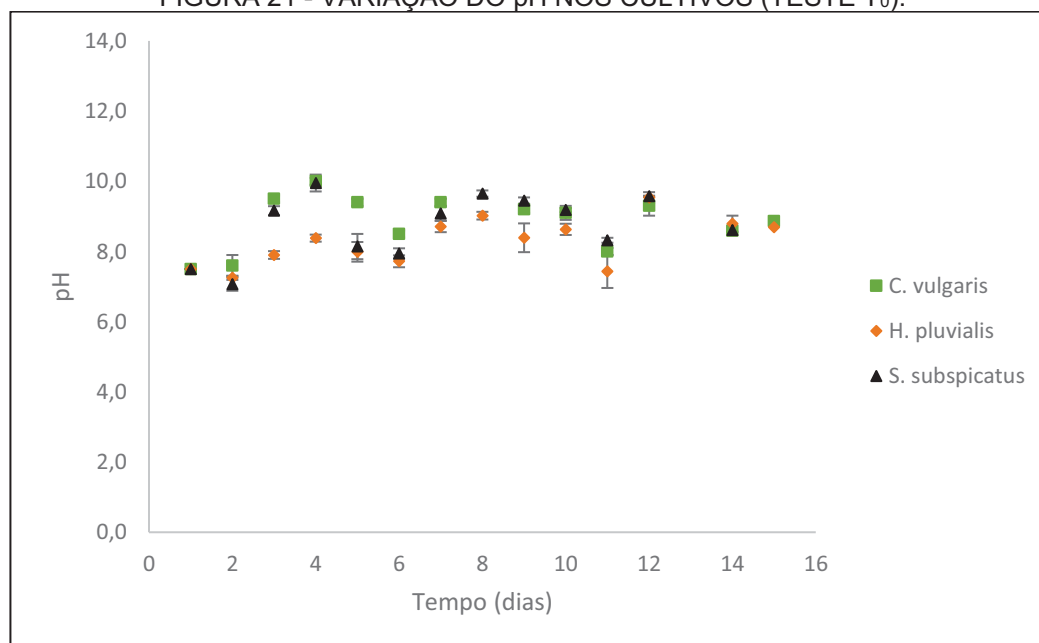
Chekanov et al. (2017) afirmam que a concentração moderada de CO<sub>2</sub> (5%) beneficia o cultivo de *H. pluvialis* favorecendo o acúmulo de carbono e a produção de biomassa, porém, fornecimento de CO<sub>2</sub> a concentrações maiores do que 10% são prejudiciais e acabam por diminuir o seu crescimento. Tal fato respalda os resultados obtidos ao verificarmos que o crescimento com a injeção de gases foi maior quando comparado ao controle. Isso ainda é confirmado por Cheng et al. (2016) que demonstraram a tolerância de *H. pluvialis* quando exposta a uma concentração de

15% de CO<sub>2</sub>, relatando que esta concentração propiciou um aumento do rendimento do cultivo quando comparado com a injeção de ar. Segundo estes autores, essa resposta está relacionada com o aumento da atividade fotossintética e à competição por CO<sub>2</sub>.

#### 4.1.2 pH do meio

Com relação a variação do pH dos meios de cultivo, verifica-se que o tempo de injeção proposto nesta etapa (1 minuto de injeção de gás simulado - ar sintético + NO + CO<sub>2</sub> - a cada 19 minutos de injeção de ar) e a faixa de pH em que se trabalhou, não prejudicaram o crescimento das microalgas. O pH dos cultivos foram analisados diariamente, e em todos os tratamentos com injeção de gás, o pH se manteve na faixa entre 7,1 e 10,0 durante os 15 dias de cultivo (FIGURA 21). Na TABELA 7 é possível ver os valores médios de pH para os diferentes cultivos. Os modelos estatísticos empregados, comparando os testes controle com testes fazendo uso de injeção de gases, não mostraram diferença significativa nos valores de pH ( $p > 0,05$ ). O mesmo aconteceu quando foram feitas comparações múltiplas entre as espécies. Isso indica que o arranjo de injeções proposto para os testes, não afetou de forma significativa o pH do sistema.

FIGURA 21 - VARIAÇÃO DO pH NOS CULTIVOS (TESTE T<sub>0</sub>).



FONTE: O autor (2018)

TABELA 7 – VALORES MÉDIOS DE pH PARA OS FOTOBIOREATORES DE *C. vulgaris*, *H. pluvialis* E *S. subspicatus* DURANTE OS 15 DIAS DE CULTIVO (TESTE T<sub>0</sub>).

CULTIVOS	<i>C. vulgaris</i>	<i>H. pluvialis</i>	<i>S. Subspicatus</i>
Controle ar	9,4 ± 0,3	8,6 ± 0,2	9,3 ± 0,4
Tratamentos com injeção de gás	8,8 ± 0,1	8,3 ± 0,2	8,7 ± 0,1

FONTE: O autor (2018)

Ao avaliar a tolerância de *Spirulina sp.*, *Scenedesmus obliquus*, *S. nidulans* e *Chlorella vulgaris* à exposição de 12% de CO<sub>2</sub>, 60 ppm de SO<sub>2</sub> e 100 ppm de NO<sub>x</sub>, Radmann et al. (2011) relataram um intervalo de pH entre 6,0 e 10,0. Os autores concluem que a maior produção de biomassa foi relacionada a uma faixa de pH entre 8,0 e 9,0, o que respalda os resultados aqui obtidos.

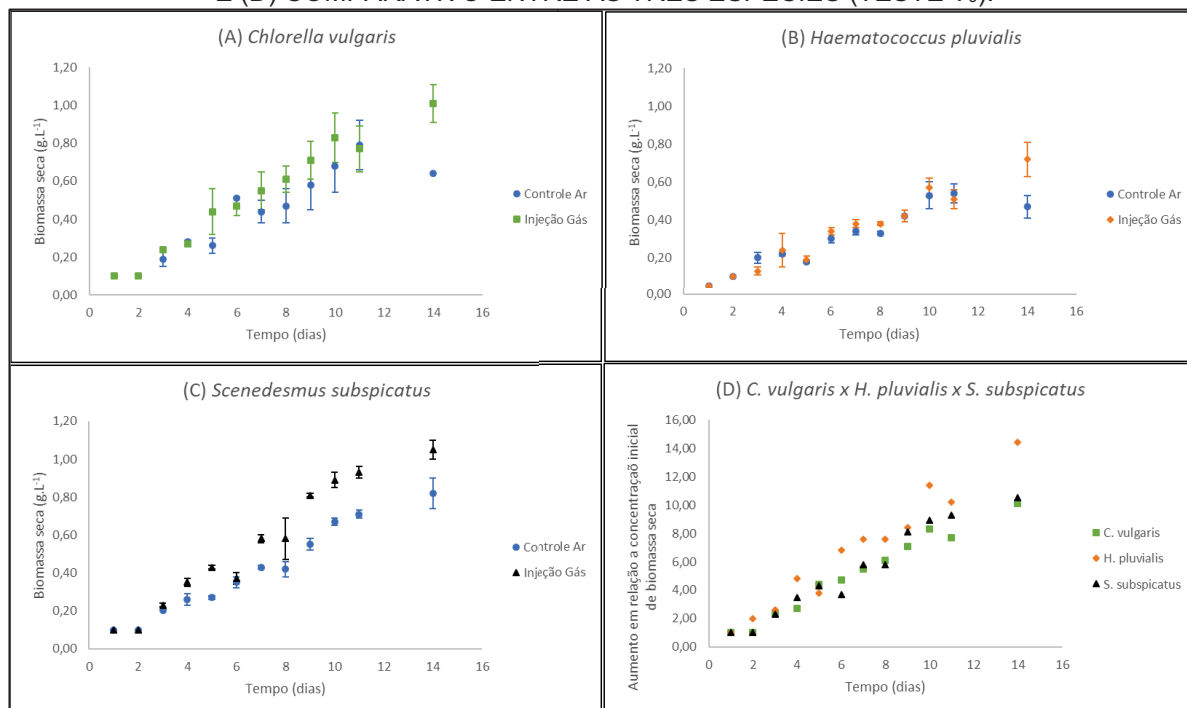
Ainda, os autores afirmam que a injeção de gases como CO<sub>2</sub> e NO<sub>x</sub> no meio de cultivo altera o pH, interferindo no desenvolvimento das microalgas por diminuir a biodisponibilidade de alguns nutrientes como o fósforo e o carbono inorgânico. Porém, os dados obtidos para *C. vulgaris*, *H. pluvialis* e *S. subspicatus* indicaram que a injeção de gases, nos intervalos de tempo em que se desenvolveram os testes, não interferiram nos valores de pH de forma a impossibilitar o crescimento das microalgas. Isto indica a possibilidade de realizar novos experimentos aumentando a concentração dos gases, assim como o tempo de injeção das emissões nos cultivos.

#### 4.1.3 Biomassa seca

Ao analisar a produtividade de biomassa entre o primeiro dia de cultivo e o último dia, verificou-se que cada espécie apresentou um comportamento ligeiramente diferente (FIGURA 22A, FIGURA 22B, FIGURA 22C e FIGURA 22D). Entretanto, os testes estatísticos não indicam diferença significativa entre os testes controle e os testes com injeção de gases para uma mesma espécie ( $p > 0,05$ ). O mesmo aconteceu quando a comparação foi feita entre as diferentes espécies.



FIGURA 22 – PRODUÇÃO DE BIOMASSA SECA: (A) *C. vulgaris*; (B) *H. pluvialis*; (C) *S. subspicatus*; E (D) COMPARATIVO ENTRE AS TRÊS ESPÉCIES (TESTE T<sub>0</sub>).



FONTE: O autor (2018)

Apesar disso, percentualmente, ao final dos 15 dias, os fotobiorreatores com injeção de gases na *C. vulgaris* produziram 37% a mais que o controle com injeção de ar. *H. pluvialis* e *S. subspicatus* produziram, em relação ao controle, respectivamente, 35% e 22% a mais.

Ao analisar as produtividades médias diárias, a *C. vulgaris* e a *S. subspicatus* apresentaram os mesmos valores (0,07 g.L<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>), enquanto a *H. pluvialis* apresentou um valor de 0,05 g.L<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup> (TABELA 8). Li et al. (2017) quando avaliaram o crescimento de *H. pluvialis* sob uma exposição de 15% de CO<sub>2</sub>, obtiveram uma produtividade máxima de 0,66 g.L<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>, indicando que a concentração de 5% de CO<sub>2</sub> utilizada pode ser aumentada para melhorar a assimilação de carbono.

TABELA 8 – PRODUTIVIDADE DE BIOMASSA POR *C. vulgaris*, *H. pluvialis* E *S. subspicatus* ENTRE O PRIMEIRO E O ÚLTIMO DIA DE EXPERIMENTO (TESTE T<sub>0</sub>).

CULTIVOS	<i>C. vulgaris</i> (g.L <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup> )	<i>H. pluvialis</i> (g.L <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup> )	<i>S. subspicatus</i> (g.L <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup> )
Controle ar	0,04	0,03	0,05
Tratamentos com injeção de gás	0,07	0,05	0,07

FONTE: O autor (2018)

De acordo com Vaz et al. (2016) a exposição das microalgas a gases contendo moléculas como óxidos de nitrogênio ( $\text{NO}_x$ ) podem inibir o crescimento microalgal. Contudo, na metodologia trabalhada, constatou-se que as microalgas avaliadas não foram totalmente inibidas por essa exposição. Pelo contrário, as mesmas apresentaram crescimentos maiores nos tratamentos com a injeção de gases simulados do que nos tratamentos controle, apenas com injeção de ar.

Pelo exposto, as espécies *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus subspicatus* foram as que apresentaram a melhor adaptação em termos de crescimento celular e produção de biomassa seca. Portanto, a espécie *H. pluvialis* foi descartada para o uso nos testes seguintes. E não havendo diferença significativa entre as duas outras espécies testadas, a *C. vulgaris* foi a espécie selecionada para as análises seguintes de fixação e eficiência de biofixação de  $\text{NO}_x$  fazendo o uso associado do pré-tratamento fotocatalítico.

#### 4.2 TESTES $T_1$ , $T_2$ , $T_3$ E $T_4$ – ANÁLISE DA EFICIÊNCIA DE BIOFIXAÇÃO DE $\text{NO}_x$

A TABELA 9 resume a eficiência de biofixação de  $\text{NO}_x$  para os testes  $T_2$ ,  $T_3$  e  $T_4$ , que foram os testes que se utilizaram do  $\text{NO}_x$  proveniente de uma corrente gasosa como fonte de nitrogênio. Os resultados representam o acumulado para os 15 dias de testes e são apresentados em termos de  $\text{NO}_x$ . Mais detalhes sobre os resultados são apresentados nas seções subsequentes.

TABELA 9 – CONCENTRAÇÕES MÉDIAS DE  $\text{NO}_x$  NA ENTRADA E SAÍDA DOS FBR'S

TESTE	$[\text{NO}_x]_{\text{entrada}}$ (ppm)	$[\text{NO}_x]_{\text{saída}}$ (ppm)	Média de Abatimento (%)
$T_2$	$58,3 \pm 0,9$	$50,3 \pm 1,7$	13,8
$T_3$	$46,7 \pm 0,9$	$15,0 \pm 2,2$	68,0
$T_4$	$61,9 \pm 0,4$	$16,8 \pm 3,3$	72,8

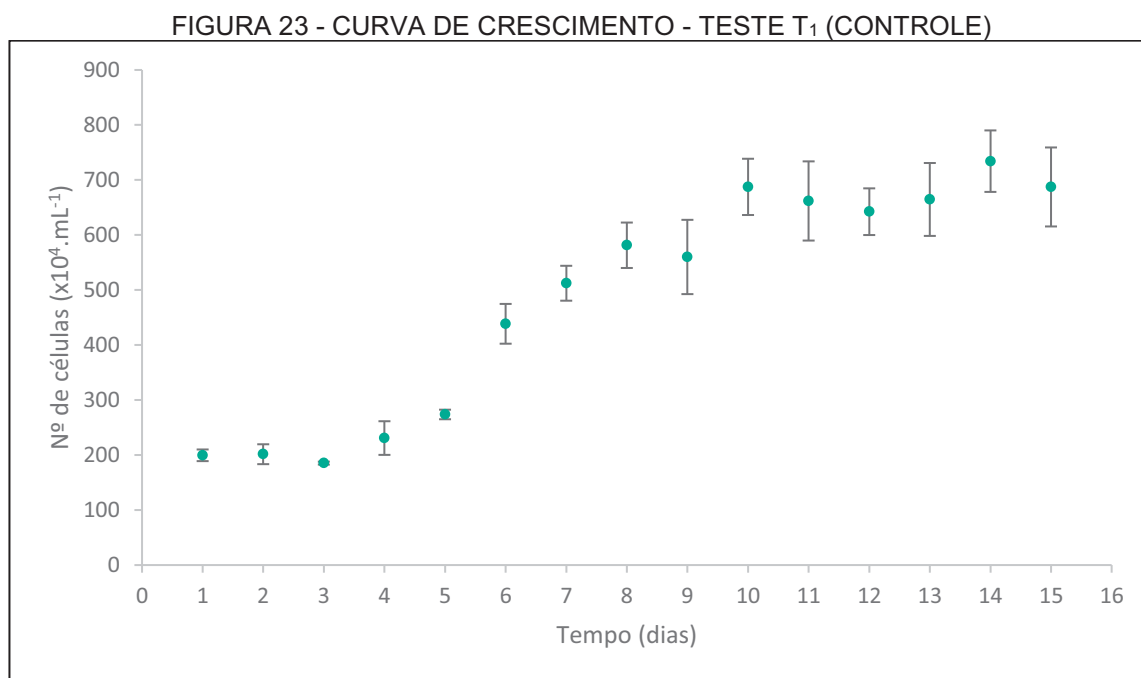
FONTE: O autor (2018)

##### 4.2.1 Teste controle ( $T_1$ )

Os FBR's do teste  $T_1$  foram alimentados com uma corrente gasosa livre da presença de  $\text{NO}_x$ . A fonte de nitrogênio utilizada foi o  $\text{NaNO}_3$  dissolvido no meio de cultivo. A corrente gasosa era composta apenas por ar sintético e  $\text{CO}_2$  na concentração de 5%. Algumas dificuldades com o controle das perdas de carga no percurso da corrente gasosa alteraram os ajustes de vazão realizados para cada um

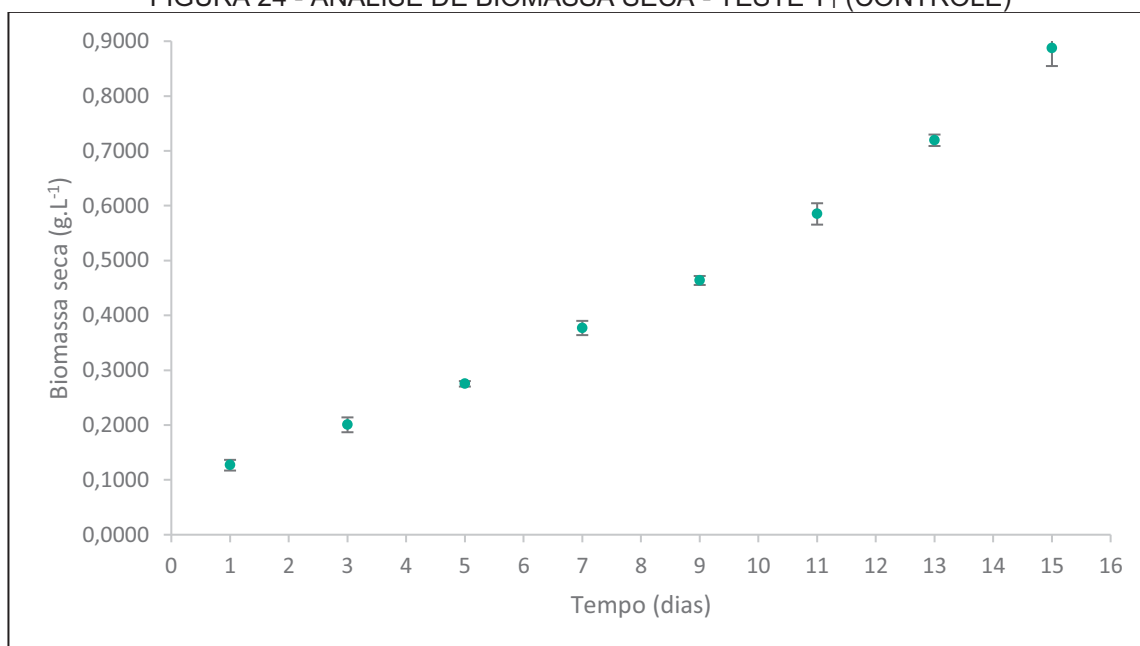
dos FBR's. Contudo, logo que verificado estes desvios, as válvulas eram reajustadas afim de fornecer a mesma vazão para toda a triplicata.

A FIGURA 23 mostra a curva de crescimento celular para a alga nos FBR's do teste T<sub>1</sub> (controle) durante os 15 dias. A quantidade média inicial de células na triplicata foi de  $200.10^4$  células.mL<sup>-1</sup>. A máxima densidade de células para o teste foi de  $734.10^4$  células.mL<sup>-1</sup>, alcançada no 14º dia. A curva de crescimento apresentou claramente, nos primeiros 3 dias de teste, uma fase de indução (fase lag), caracterizada por um nível baixo na taxa de crescimento e justificada pela necessidade de adaptação fisiológica das células ao meio de cultivo que apresenta mudanças nas condições de nutrientes. Verificou-se, também, entre o 4º e o 10º dia, uma fase exponencial em que a taxa de crescimento se tornou maior e constante, motivado pela concentração ideal de nutrientes presentes no meio de cultivo. Por fim, entre o 11º e o 15º dia, observou-se uma fase estacionária, caracterizada pela estabilidade no crescimento celular.



FONTE: O autor (2018)

A análise de biomassa seca evidencia um aumento gradativo durante todo o período de teste, como pode ser visto na FIGURA 24. A concentração inicial média na triplicata foi de  $0,127$  g.L<sup>-1</sup>, alcançando um valor máximo no 15º dia de  $0,887$  g.L<sup>-1</sup>. Quando analisada a produtividade média diária incluindo todos os dias de teste, o valor encontrado foi de  $0,05$  g.L<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>.

FIGURA 24 - ANÁLISE DE BIOMASSA SECA - TESTE T<sub>1</sub> (CONTROLE)

FONTE: O autor (2018)

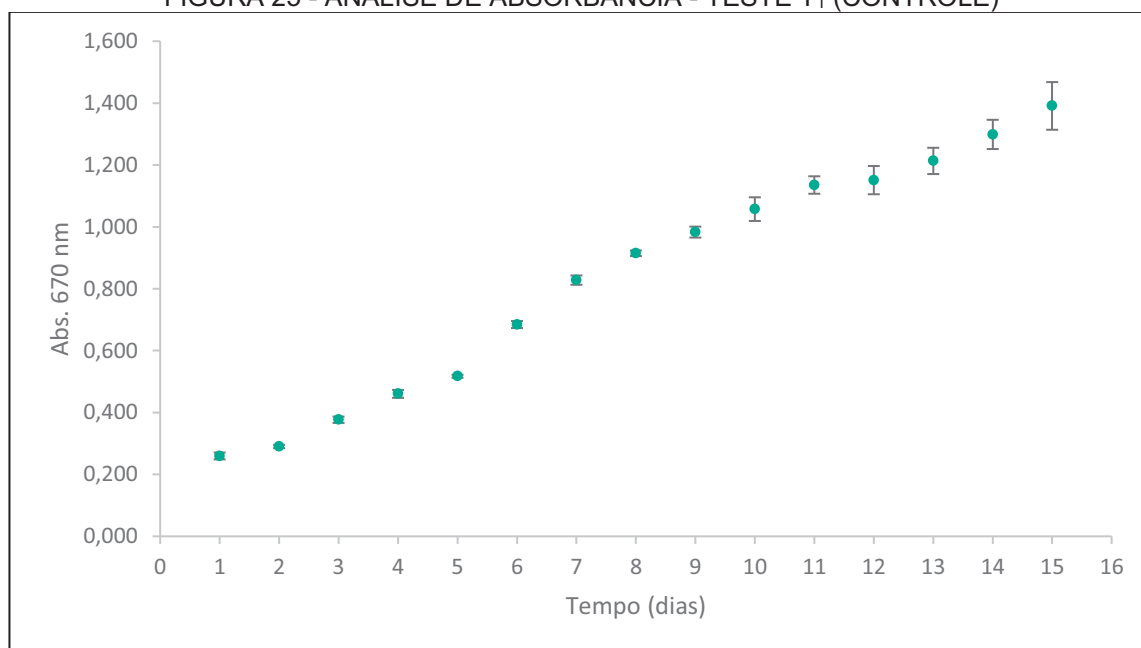
Na TABELA 10 estão os valores encontrados para produtividade média a cada 2 dias. Observando-se estes dados, percebe-se um aumento da produtividade entre os dias 9 e 15. Este período coincide com a fase de diminuição da taxa de crescimento celular, que resulta da escassez de nutrientes disponíveis. Nestes períodos nos quais as algas já se encontram sob certas condições de “*stress*”, segundo HOEK et al. (1995), elas podem armazenar uma maior quantidade de lipídeos e carboidratos, que em partes pode explicar esse aumento na produtividade média.

TABELA 10 - PRODUTIVIDADE MÉDIA A CADA 2 DIAS - TESTE T<sub>1</sub>

Dia	Produtividade Média (g.L <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup> )
1º ao 3º	0,04
3º ao 5º	0,04
5º ao 7º	0,05
7º ao 9º	0,04
9º ao 11º	0,06
11º ao 13º	0,07
13º ao 15º	0,08

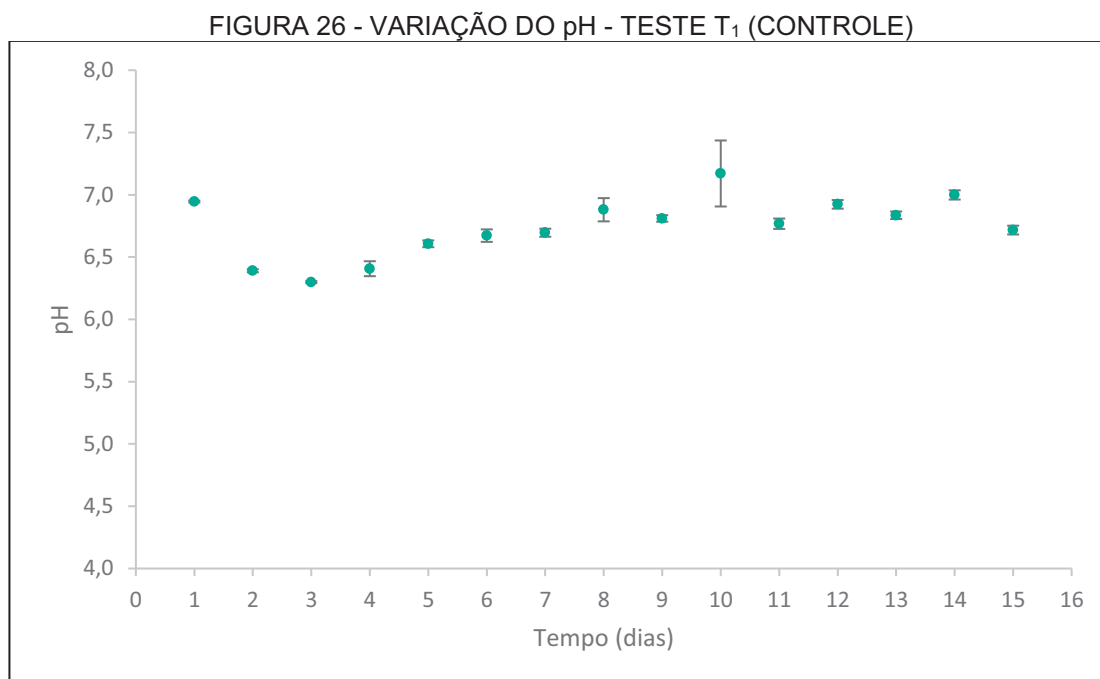
FONTE: O autor (2018)

A análise de absorvância evidenciou a redução da transmissão de luz no meio causada pela presença das células de algas. Os resultados obtidos (FIGURA 25), mostram uma curva com perfil similar a curva obtida para análise do crescimento celular, mostrando que nestas condições de teste os dados podem ser correlacionados afim de se obter um monitoramento do crescimento.

FIGURA 25 - ANÁLISE DE ABSORBÂNCIA - TESTE T<sub>1</sub> (CONTROLE)

FONTE: O autor (2018)

No que diz respeito a variação do pH nos meios de cultivo (FIGURA 26), verificou-se que a injeção contínua de CO<sub>2</sub> alterou o valor de pH comumente encontrado em tratamentos com injeção intermitente ou com uso de apenas ar sintético. Nos testes preliminares, por exemplo, em que se trabalhou com injeções intermitentes, o pH médio durante o período de teste com a espécie *C. vulgaris* foi de  $8,8 \pm 0,1$ . Para o teste T<sub>1</sub>, o valor médio de pH obtido foi de  $6,74 \pm 0,05$ . Esta diminuição já era esperada visto que, segundo BARSANTI e GUALTIERI (2006), a injeção contínua de CO<sub>2</sub> na presença de H<sub>2</sub>O, proporciona a formação de ácido carbônico (H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) e, conseqüentemente, maior disponibilização de íons H<sup>+</sup>, causando uma tendência de acidificação do meio. Neste ponto, fazendo-se um paralelo com os resultados obtidos nos testes preliminares para a espécie *C. vulgaris*, os menores valores de pH parecem, de fato, ter favorecido a obtenção de menores valores de densidade celular. No teste T<sub>0</sub>, no qual não se trabalhou com injeção contínua de CO<sub>2</sub>, o maior valor encontrado se aproximou das  $3000 \cdot 10^4$  células.mL<sup>-1</sup>, enquanto no teste T<sub>1</sub> se chegou a um valor na ordem de  $700 \cdot 10^4$  células.mL<sup>-1</sup>.



FONTE: O autor (2018)

#### 4.2.2 Testes da análise de biofixação de NO<sub>x</sub> (T<sub>2</sub>, T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub>)

Na TABELA 11 estão os dados obtidos para a biofixação de NO<sub>x</sub> com os FBR's dos testes T<sub>2</sub>, T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub> durante os 15 dias de experimento.

TABELA 11 - DADOS DE BIOFIXAÇÃO DE NO<sub>x</sub> PARA OS TESTES T<sub>2</sub>, T<sub>3</sub> E T<sub>4</sub>

tempo (dia)	T <sub>2</sub>			T <sub>3</sub>			T <sub>4</sub>		
	[NO <sub>x</sub> ] <sub>ent</sub> (ppm)	[NO <sub>x</sub> ] <sub>saída</sub> (ppm)	Biofixação (%)	[NO <sub>x</sub> ] <sub>ent</sub> (ppm)	[NO <sub>x</sub> ] <sub>saída</sub> (ppm)	Biofixação (%)	[NO <sub>x</sub> ] <sub>ent</sub> (ppm)	[NO <sub>x</sub> ] <sub>saída</sub> (ppm)	Biofixação (%)
1	61,3 ± 0,5	53,8 ± 0,6	12,2	0,0	0,0	-	66,3 ± 1,0	8,9 ± 2,6	86,6
2	58,7 ± 0,7	50,0 ± 1,5	14,7	0,0	0,0	-	65,9 ± 0,2	9,1 ± 1,5	86,1
3	58,2 ± 0,7	50,8 ± 1,1	12,6	0,0	0,0	-	59,1 ± 0,2	10,0 ± 2,9	83,0
4	57,8 ± 1,1	51,0 ± 0,6	11,8	2,6 ± 0,1	0,1 ± 0,1	96,2	62,0 ± 0,6	12,7 ± 3,9	79,5
5	54,7 ± 1,3	53,0 ± 0,5	3,0	37,7 ± 1,3	11,0 ± 1,6	70,9	62,8 ± 0,2	18,2 ± 4,9	71,1
6	57,9 ± 1,2	50,5 ± 2,6	12,7	59,8 ± 1,6	19,4 ± 2,6	67,5	66,2 ± 0,6	17,5 ± 2,4	73,5
7	58,1 ± 0,9	49,9 ± 0,7	14,2	66,9 ± 1,2	20,9 ± 3,3	68,7	62,3 ± 0,1	17,8 ± 5,5	71,4
8	59,1 ± 1,2	48,3 ± 1,9	18,3	62,0 ± 1,2	19,6 ± 2,4	68,4	63,4 ± 0,5	17,9 ± 4,1	71,7
9	58,3 ± 0,9	50,9 ± 1,2	12,8	65,7 ± 1,6	25,1 ± 3,3	61,7	63,9 ± 0,5	14,2 ± 2,8	77,9
10	58,4 ± 0,8	46,7 ± 5,9	20,1	72,4 ± 1,4	19,4 ± 2,7	73,2	62,1 ± 0,3	19,6 ± 4,5	68,4
11	58,0 ± 0,9	49,3 ± 1,4	15,0	72,3 ± 1,0	17,7 ± 1,0	75,5	58,8 ± 0,3	21,1 ± 2,8	64,2
12	58,1 ± 0,9	49,3 ± 0,9	15,3	65,0 ± 1,6	18,2 ± 3,9	72,0	63,0 ± 0,3	21,7 ± 2,0	65,6
13	58,8 ± 0,5	50,2 ± 2,1	14,7	64,6 ± 0,3	19,9 ± 3,8	69,2	61,2 ± 0,2	20,4 ± 4,0	66,6
14	58,8 ± 0,6	51,0 ± 1,6	13,3	64,1 ± 0,6	22,1 ± 2,9	65,6	49,2 ± 0,4	22,4 ± 3,6	54,5
15	58,4 ± 0,9	49,5 ± 2,7	15,2	66,9 ± 1,0	30,6 ± 5,8	54,2	62,2 ± 0,6	20,6 ± 1,7	66,9
Média	58,3 ± 0,9	50,3 ± 1,7	13,8	46,7 ± 0,9	15,0 ± 2,2	68,0	61,9 ± 0,4	16,8 ± 3,3	72,8

FONTE: O autor (2018)



Nos testes T<sub>2</sub> e T<sub>3</sub> os FBR's foram alimentados com uma corrente gasosa composta por NO, CO<sub>2</sub> e ar sintético, com a diferença que no teste T<sub>3</sub> a corrente gasosa era antes alimentada ao reator de fotocatalise com o objetivo de oxidar o NO a NO<sub>2</sub> antes da alimentação dos FBR's. A porcentagem de conversão conseguida neste teste é mostrado na TABELA 12. Os 4 primeiros dias de teste não proporcionaram nenhuma conversão de NO em NO<sub>2</sub>. Mesmo tendo leituras na entrada do reator de fotocatalise que comprovam a carga de NO sendo alimentada ao sistema fotocatalítico, nenhuma concentração de NO ou NO<sub>2</sub> foi observada na saída do reator. As explicações possíveis são a formação de outras espécies de nitrogênio diferentes do NO<sub>2</sub> que não puderam ser identificadas pelo analisador ou, então, mesmo havendo a formação de NO<sub>2</sub>, este permaneceu aderido a superfície catalítica e começou a ser liberado após sua saturação. Para transpor este problema e para proceder com comparações mais realistas, realizou-se o teste T<sub>4</sub>, com injeção direta de NO<sub>2</sub> em outra triplicata de FBR's. Neste teste foi possível manter uma alimentação constante e controlada de NO<sub>2</sub> durante todo o período de teste.

TABELA 12 - CONVERSÃO DE NO NA ETAPA DE FOTOCATÁLISE			
Dia	[NO] <sub>entrada fotocatalise</sub> (ppm)	[NO] <sub>saída fotocatalise</sub> (ppm)	$([NO]_{entrada} - [NO]_{saída})/[NO]_{entrada}$ (%)
1	39 ± 0	0	0
2	51 ± 0	0	0
3	51 ± 0	0	0
4	52 ± 1	0	0
5	49 ± 1	10 ± 1	80
6	52 ± 1	10 ± 1	81
7	52 ± 1	11 ± 1	78
8	53 ± 1	12 ± 1	77
9	52 ± 1	15 ± 1	72
10	48 ± 1	15 ± 1	70
11	52 ± 1	17 ± 1	68
12	52 ± 1	15 ± 1	72
13	52 ± 0	12 ± 0	77
14	49 ± 1	14 ± 1	72
15	52 ± 1	15 ± 1	72

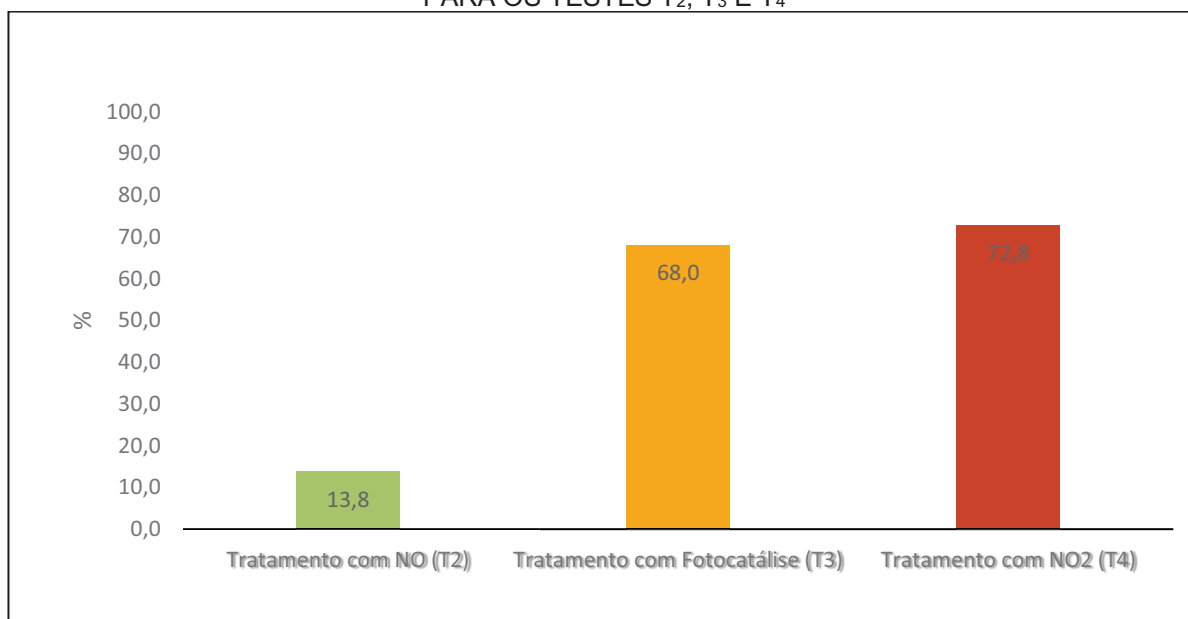
FONTE: O autor (2018)

Devido as dificuldades com as perdas de carga do sistema, as concentrações alvo para entrada dos FBR's de 50 ppm de NO (teste T<sub>2</sub>), 50 ppm de NO<sub>2</sub> (teste T<sub>4</sub>) e 5% de CO<sub>2</sub>, tiveram variações ao longo do experimento. As concentrações reais obtidas na corrente de entrada e de saída dos FBR's de todos os testes são também mostradas na TABELA 11. Nos testes T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub> as concentrações que aparecem em termos de [NO<sub>x</sub>]<sub>ent</sub> e [NO<sub>x</sub>]<sub>saída</sub> são predominantemente NO<sub>2</sub>, enquanto no teste T<sub>2</sub>

prevalece o NO. Como o estudo focou na eficácia da biofixação total de NO<sub>x</sub> (NO + NO<sub>2</sub>), e não qualquer componente particular do NO<sub>x</sub>, apenas a porcentagem de biofixação do NO<sub>x</sub> total foi considerada na análise. A maior eficácia da biofixação se deu para os testes T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub>, 68,0% e 72,8%, respectivamente. Comparando com o teste em que se fez uso de uma mistura contendo apenas NO (teste T<sub>2</sub>), o abatimento de NO<sub>x</sub> foi aproximadamente 5 vezes maior. Os modelos estatísticos de comparações múltiplas entre os diferentes tratamentos, indicaram diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos T<sub>2</sub> x T<sub>3</sub> e T<sub>2</sub> x T<sub>4</sub>. Executando-se o mesmo modelo para comparar T<sub>3</sub> x T<sub>4</sub>, não foi observado diferença significativa ( $p > 0,05$ ). Estes resultados sugerem uma melhor efetividade dos tratamentos T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub> no que diz respeito a biofixação de óxidos de nitrogênio. Eynde et al. (2016) ao investigarem os efeitos benéficos do uso de um pré-tratamento fotocatalítico, cultivando a espécie marinha *Thalassiosira weissflogii* em fotobiorreatores de placas e com injeção de uma corrente gasosa de 1% de CO<sub>2</sub> e 50 ppm de NO, obtiveram uma remoção de 84% do NO<sub>x</sub> presente na corrente gasosa. Este resultado corrobora com os resultados obtidos neste estudo, indicando que uma melhora na configuração dos FBR's utilizados pode melhorar ainda mais as taxas de remoção de óxidos nitrogênio do efluente gasoso.

A FIGURA 27 mostra de forma mais clara a média de abatimento conseguido ao longo dos 15 dias de teste para cada um dos experimentos realizados. As remoções de NO<sub>x</sub> pelos testes T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub>, ou seja, com a presença de NO<sub>2</sub> nos FBR's, se mostraram evidentemente mais efetivas quando comparadas com o teste T<sub>2</sub>, em que havia a presença de apenas NO. Segundo Dora et al. (2009), o NO<sub>2</sub> é 6 mil vezes mais solúvel em meio aquoso do que o NO e assim aumenta a absorção de NO<sub>x</sub> no meio de cultivo, fazendo com que as microalgas utilizem essa fonte de nitrogênio com mais efetividade. Os resultados obtidos fortalecem o que foi colocado pelo autor, pois o uso combinado do sistema de cultivo de algas com o pré-tratamento fotocatalítico, fazendo uso de luz UV e TiO<sub>2</sub> como catalisador para transformar o NO em NO<sub>2</sub>, proporcionou um efeito positivo na melhora da biodisponibilidade do nitrogênio nos FBR's.

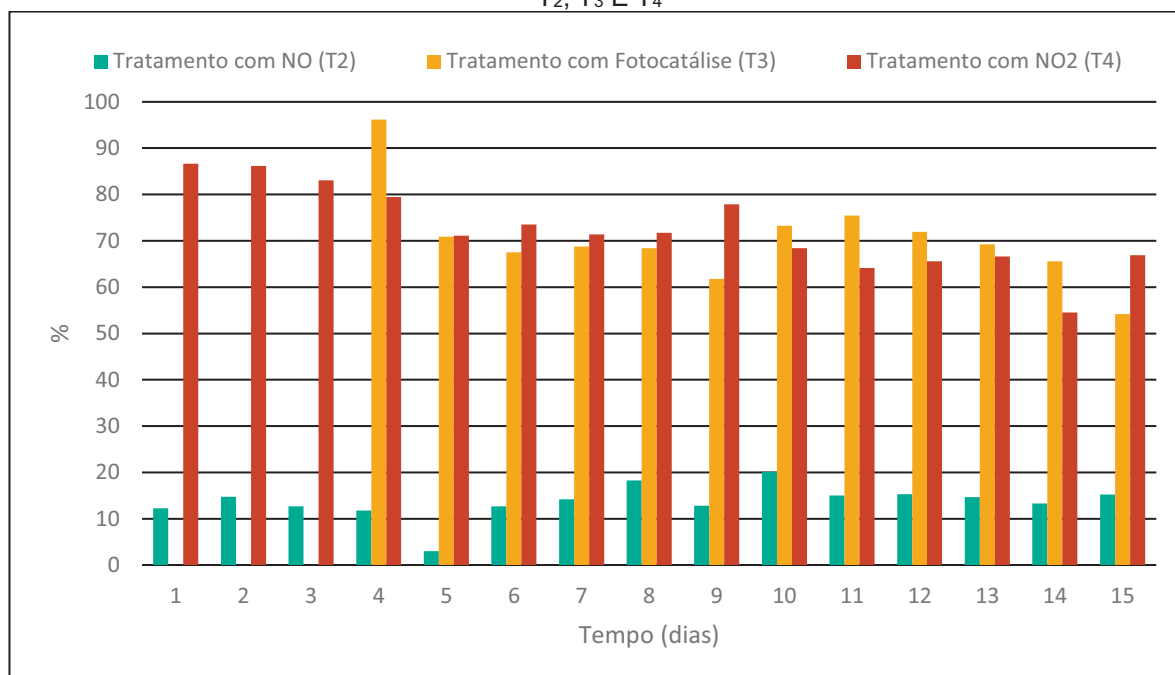
FIGURA 27 - BIOFIXAÇÃO DE ÓXIDOS DE NITROGÊNIO ACUMULADO AO LONGO DOS 15 DIAS PARA OS TESTES T<sub>2</sub>, T<sub>3</sub> E T<sub>4</sub>



FONTE: O autor (2018)

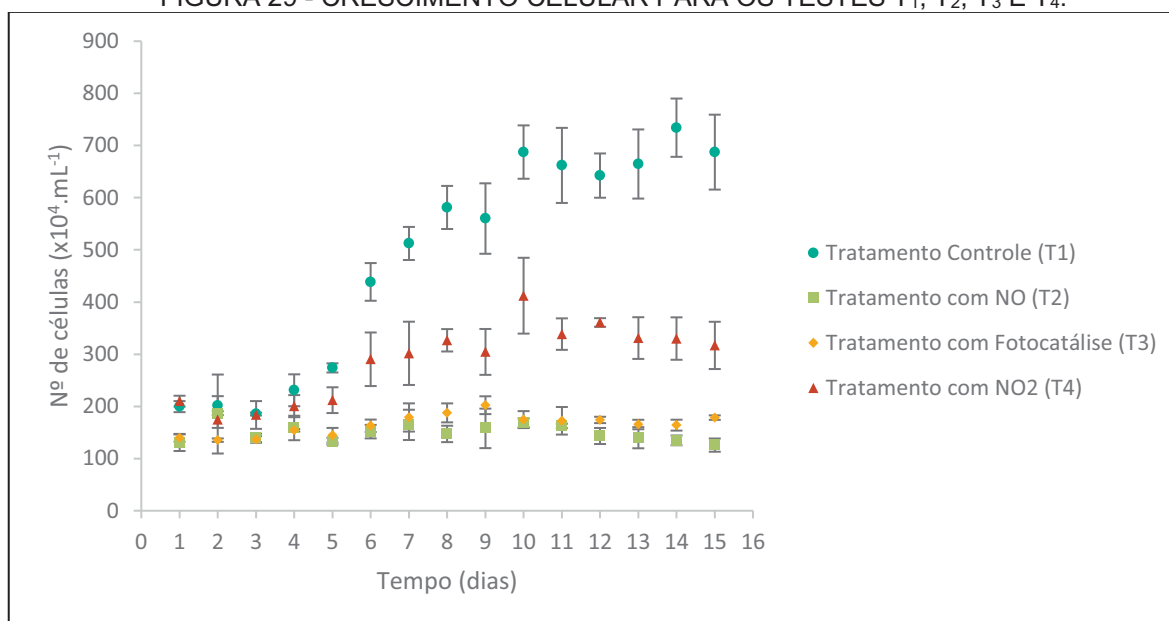
Ao observar os dados de biofixação diários (FIGURA 28) e focando a atenção para os abatimentos conseguidos a partir do 4º dia de experimento para os testes T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub>, é possível perceber uma aproximação maior ainda entre estes tratamentos. Fazendo-se o mesmo cálculo a partir deste dia, os valores percentuais médios para ambos os testes ficam em 68% de eficiência de biofixação. Isso indica que, mesmo não havendo 100% de conversão pelo processo de fotocatalise no teste T<sub>3</sub>, a eficiência de biofixação parece não ter sido afetada.

FIGURA 28 - BIOFIXAÇÃO DE ÓXIDOS DE NITROGÊNIO DIÁRIO PARA OS 15 DIAS DOS TESTES T<sub>2</sub>, T<sub>3</sub> E T<sub>4</sub>



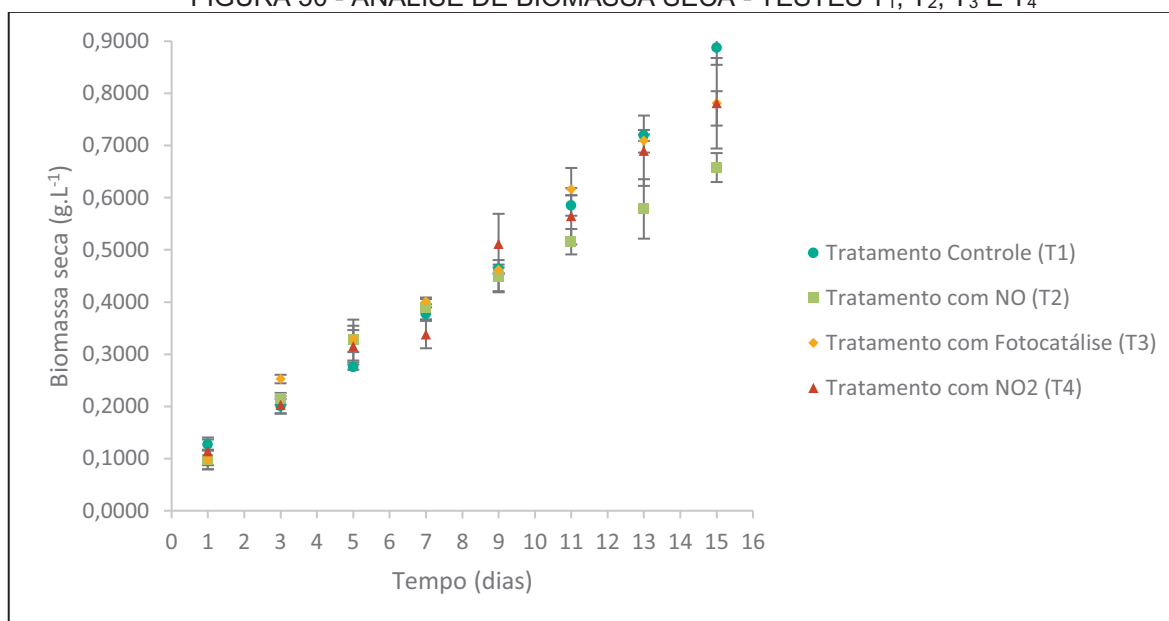
FONTE: O autor (2018)

Ao confrontar as curvas de crescimento celular dos testes T<sub>2</sub>, T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub> com a curva do crescimento do teste T<sub>1</sub> (tratamento controle), verificou-se uma perceptível diferença (FIGURA 29). O uso de injeção contínua de gases provocou diminuições significativas do crescimento nos três tratamentos que fizeram uso do NO<sub>x</sub> como fonte de nitrogênio ( $p < 0,05$ ). Os testes T<sub>2</sub> (tratamento com NO) e T<sub>3</sub> (tratamento com fotocatalise) não demonstraram nenhuma tendência de aumento em relação a quantidade inicial de células presente nos FBR's. O teste T<sub>4</sub> (tratamento com NO<sub>2</sub>) exibiu um ligeiro aumento em relação à condição inicial, alcançando  $412 \cdot 10^4$  células.mL<sup>-1</sup> no 10º dia de experimento. Este comportamento já era o esperado dada a mudança nas condições ideais de disponibilidade de nutrientes, no caso o nitrogênio. O nitrogênio é um nutriente limitante para o desenvolvimento das microalgas. Segundo OHSE et al. (2007), apesar do carbono ser considerado o macronutriente mais importante, o nitrogênio desempenha papel fundamental na indução do crescimento. Ainda, segundo Deng et al. (2011), a deficiência deste nutriente no meio é especialmente eficiente para estimular a produção de lipídeos nas células, porém, estas mesmas condições de “*stress*” também corroboram drasticamente na redução do crescimento celular.

FIGURA 29 - CRESCIMENTO CELULAR PARA OS TESTES T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>, T<sub>3</sub> E T<sub>4</sub>.

FONTE: O autor (2018)

Em relação a análise de biomassa seca, assim como no teste T<sub>1</sub>, os testes T<sub>2</sub>, T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub>, mostraram um aumento gradativo durante todo o período de teste, como pode ser visto na FIGURA 30. Porém, de maneira oposta ao que foi observado para o crescimento celular, o uso de injeção contínua do gás simulado não provocou reduções significativas na produção de biomassa ( $p > 0,05$ ). As concentrações iniciais médias para os testes T<sub>2</sub> e T<sub>3</sub> foram de  $0,098 \text{ g.L}^{-1}$  e para o teste T<sub>4</sub> foi de  $0,114 \text{ g.L}^{-1}$ . Os melhores valores alcançados, excluindo-se o teste controle (T<sub>1</sub>), foram obtidos nos testes em que o NO<sub>2</sub> estava presente, ou seja, nos testes T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub>. Para estes testes, o valor obtido ao final dos 15 dias foi de  $0,781 \text{ g.L}^{-1}$ . No teste T<sub>2</sub>, onde se fez uso apenas de NO como fonte de nitrogênio, o valor máximo alcançado foi de  $0,658 \text{ g.L}^{-1}$ .

FIGURA 30 - ANÁLISE DE BIOMASSA SECA - TESTES T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>, T<sub>3</sub> E T<sub>4</sub>

FONTE: O autor (2018)

Uma pequena diferença também foi notada em termos de produtividade média diária. Calculando-se a média para todos os dias de testes, o valor encontrado em T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub> coincide com o valor encontrado no teste controle (T<sub>1</sub>), de 0,05 g.L<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>, enquanto no teste T<sub>2</sub> o valor médio foi de 0,04 g.L<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>. Na TABELA 13 estão os valores encontrados para produtividade média a cada 2 dias.

TABELA 13 - PRODUTIVIDADE MÉDIA A CADA 2 DIAS - TESTE T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>, T<sub>3</sub> E T<sub>4</sub>

Dia	Produtividade Média (g.L <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup> )			
	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>
1º ao 3º	0,04	0,06	0,08	0,04
3º ao 5º	0,04	0,06	0,04	0,06
5º ao 7º	0,05	0,03	0,04	0,01
7º ao 9º	0,04	0,03	0,03	0,09
9º ao 11º	0,06	0,03	0,08	0,03
11º ao 13º	0,07	0,03	0,05	0,06
13º ao 15º	0,08	0,04	0,04	0,05

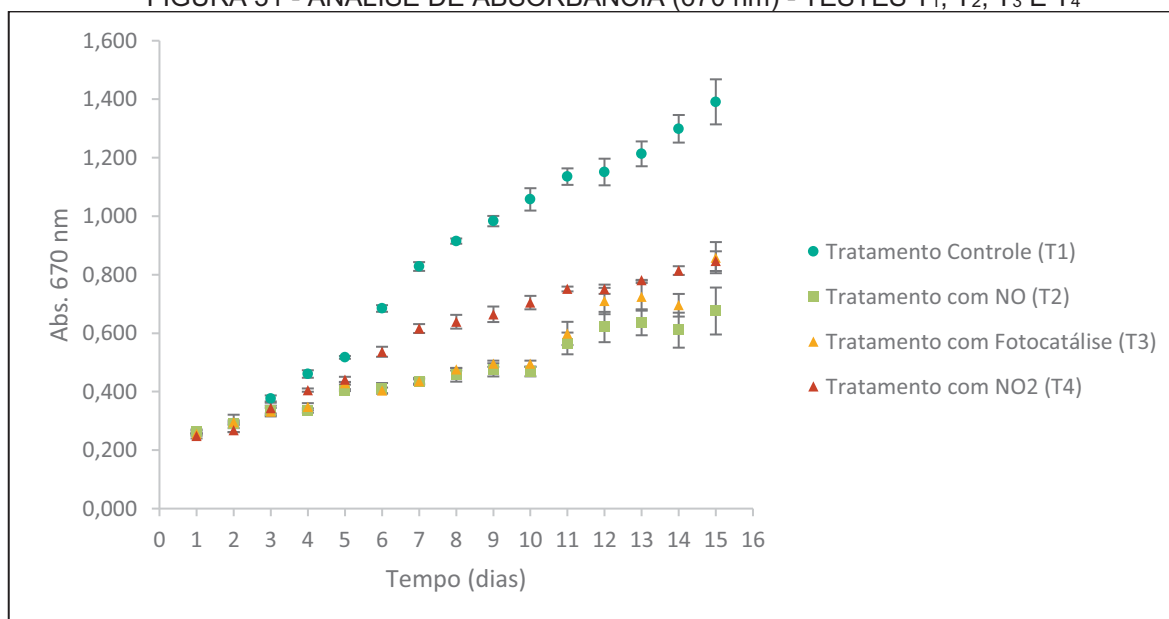
FONTE: O autor (2018)

Ao contrário do encontrado no teste controle (T<sub>1</sub>), a maior produtividade ocorreu na primeira metade dos testes. Nos testes T<sub>2</sub>, T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub>, as microalgas já se encontravam sob situação de “*stress*” desde o primeiro dia de testes, enquanto no teste controle (T<sub>1</sub>) esta mesma condição só é notada a partir do 9º dia de teste. Nestes períodos, apesar da retração no aumento do número de células novas, as células já presentes passam a armazenar uma maior quantidade de lipídeos e carboidratos,

explicando o aumento na produtividade. Neste ponto, torna-se importante um número maior de estudos sobre a composição lipídica das células que crescem sobre tais condições. Pesquisas e trabalhos de prospecção e caracterização, de diferentes espécies de microalgas que sejam cultivadas sob condições de “*stress*”, podem propiciar o entendimento de quais são as melhores condições de cultivo de determinada espécie em função do produto que se pretende obter da biomassa produzida. Dependendo da forma de lipídeos formados, por exemplo, pode ocorrer o favorecimento da utilização para a produção de biodiesel. Estudos de White et al. (2011) já mostram que muitas microalgas aumentam sensivelmente sua produção de lipídeos quando submetidas a condições não favoráveis, como baixa biodisponibilidade de nitrogênio. O mesmo autor ainda afirma que o acúmulo de lipídeos acontece principalmente sob a forma de lipídeos neutros, sendo estes mais adequados para a produção de biocombustíveis.

Os resultados obtidos pela análise de absorvância para os testes T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>, T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub> (FIGURA 31) evidenciam a mesma tendência dos resultados encontrados para o crescimento celular, ou seja, houve diferença significativa entre os resultados encontrados para o controle e o tratamentos com o uso de NO<sub>x</sub> como fonte de nitrogênio ( $p < 0,05$ ).

FIGURA 31 - ANÁLISE DE ABSORBÂNCIA (670 nm) - TESTES T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>, T<sub>3</sub> E T<sub>4</sub>



FONTE: O autor (2018)

Nestes testes foi possível perceber que a coloração encontrada nos testes T<sub>2</sub>, T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub> diferiram consideravelmente em relação ao teste controle (T<sub>1</sub>). Na FIGURA 32 é possível observar a diferença entre o controle (T<sub>1</sub>) e o teste T<sub>4</sub>, por exemplo. Para inferir algo a respeito do crescimento das algas, utilizando-se dos resultados de absorvância obtidos, seria necessário montar uma curva de calibração para cada condição trabalhada. Portanto, apesar da correlação parecer notável, sugere-se que os dados obtidos a partir da metodologia de contagem de células prevaleça para efeitos de comparação.

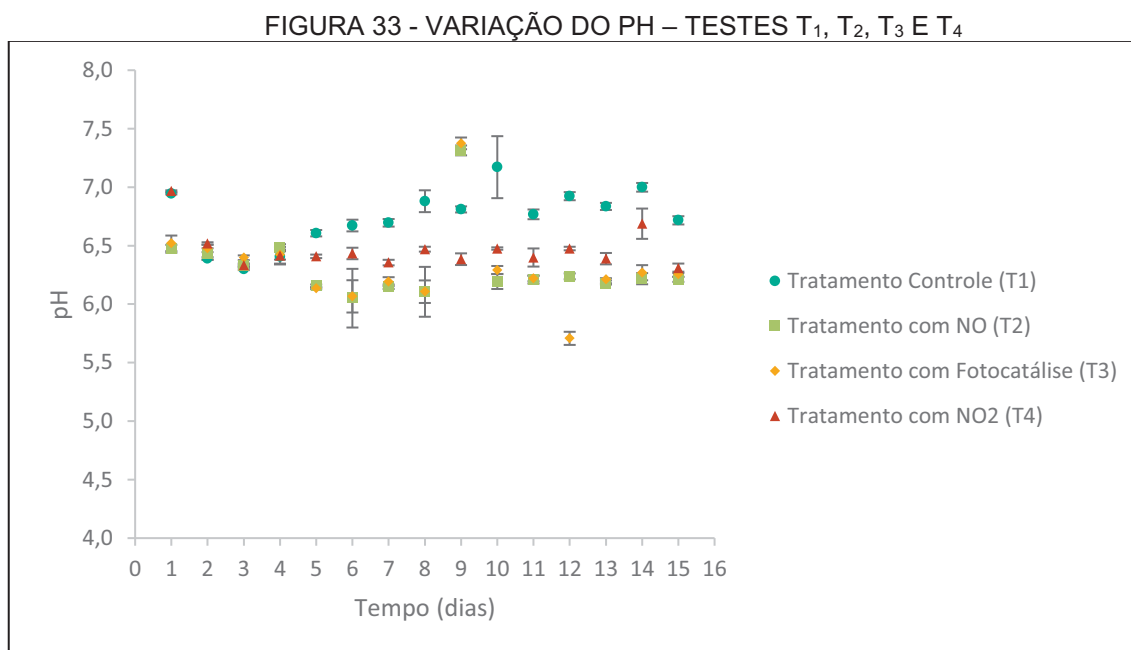
FIGURA 32 - TESTES T<sub>1</sub> (MAIS CLARO) E T<sub>4</sub> (MAIS ESCURO) COM 10 DIAS DE EXPERIMENTO



FONTE: O autor (2018)

Em relação a variação do pH nos meios de cultivo, assim como no teste controle (T<sub>1</sub>), os testes T<sub>2</sub>, T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub> apresentaram redução no valor médio de pH, que se manteve constante ao longo do experimento. Na FIGURA 33 é possível observar um desvio de comportamento no 9º dia para os testes com injeção de NO e com o uso de fotocatalise (T<sub>2</sub> e T<sub>3</sub>, respectivamente). Tal comportamento ocorreu devido a um problema na injeção de CO<sub>2</sub> neste dia. Como o CO<sub>2</sub> não estava sendo alimentado aos FBR's, naturalmente o pH esboçou uma tendência de aumento. Assim que percebido, o problema foi corrigido.





FONTE: O autor (2018)

Os valores médios encontrados para o pH podem ser vistos na TABELA 14.

TABELA 14 – VALORES MÉDIOS DE pH PARA OS TESTES T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>, T<sub>3</sub> E T<sub>4</sub>

TESTES	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>
pH médio	6,74 ± 0,05	6,32 ± 0,06	6,31 ± 0,05	6,47 ± 0,04

FONTE: O autor (2018)

Ao comparar os valores dos testes que fizeram uso da fonte de nitrogênio gasosa (T<sub>2</sub>, T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub>), com o valor do teste controle (T<sub>1</sub>), percebe-se uma ligeira queda. Esta redução se mostrou significativa a partir dos testes estatísticos realizados ( $p < 0,05$ ). Isso se explica, visto que além da injeção contínua de CO<sub>2</sub> na presença de H<sub>2</sub>O, havia também a presença de NO e NO<sub>2</sub> que proporcionam a formação de ácido nitroso (HNO<sub>2</sub>) e ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>) e, conseqüentemente, maior disponibilização de íons H<sup>+</sup>, causando uma maior tendência de acidificação do meio. Estas faixas de pH não foram limitantes para o desenvolvimento das microalgas em termos de produtividade de biomassa, visto que tais dados apresentaram valores parecidos com o teste controle (T<sub>1</sub>).

Outros autores, como Radmann et al. (2011), que trabalharam com a exposição da espécie *C. vulgaris* à 12% de CO<sub>2</sub>, 60 ppm de SO<sub>2</sub> e 100 ppm de NO<sub>x</sub>, relataram um intervalo de pH entre 6,0 e 10,0, sem ocorrência de inibição no desenvolvimento das microalgas em termos de produtividade de biomassa, corroborando com os resultados aqui encontrados. Um fato que os mesmo autores

afirmam é que a injeção contínua de gases, como  $\text{CO}_2$  e  $\text{NO}_x$ , acaba por alterar o pH do sistema de cultivo, interferindo no desenvolvimento das microalgas em termos de densidade celular, justamente em função da diminuição da biodisponibilidade de alguns nutrientes. Este fato, novamente corrobora com os efeitos observados sobre o crescimento celular neste estudo. Realmente houve uma queda significativa da densidade celular em todos os tratamentos que fizeram o uso da injeção contínuo de gases. Em alguns casos, como já mencionado, estas situações de “*stress*” podem ser bem vindas, pois podem alterar a composição celular dos organismos para uma condição almejada como, por exemplo, maior percentual de lipídeos.

Por fim, o uso combinado de fotocatálise com o objetivo de oxidar o NO a  $\text{NO}_2$  demonstrou ser uma rota promissora para o aproveitamento das emissões de  $\text{NO}_x$  como fonte de nitrogênio. As menores taxas de biofixação no teste que fez uso de NO como única fonte de nitrogênio (teste T<sub>1</sub>) parece encontrar seu fator limitante no coeficiente de solubilidade do NO em meio aquoso. A baixa solubilidade deste composto não favoreceu a biodisponibilidade de nitrogênio para as algas. Pode-se inferir que, assim que alcançado o ponto de saturação do NO no meio aquoso, todo o excesso de NO injetado no sistema pela corrente de entrada transpassou pelo meio de cultivo sem ficar biodisponível para as microalgas. Em contraste, quando usado o  $\text{NO}_2$  como fonte de nitrogênio (testes T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub>) parte desta barreira de solubilidade foi transposta e a eficiência de biofixação foi melhorada mesmo sem nenhum aprimoramento na configuração dos FBR's que tivesse como objetivo um aumento nas taxas de transferência de massa.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Uma nova estratégia para aproveitamento de óxidos de nitrogênio ( $\text{NO}_x$ ) proveniente de processos de combustão como matéria prima para a produção de microalgas foi apresentada. Uma etapa de pré-tratamento fotocatalítico, antes da entrada nos meios de cultivo, transformou o gás NO em  $\text{NO}_2$  melhorando a biodisponibilidade do nitrogênio. Deste modo, essa estratégia de tratamento pode otimizar o fornecimento de nitrogênio adicional para a cultura de microalgas e, conseqüentemente, minimizar os efeitos nocivos que o lançamento de  $\text{NO}_x$  causa quando lançado na atmosfera.

Neste estudo, a espécie *C. vulgaris* se desenvolveu relativamente bem utilizando o nitrogênio proveniente da dissolução de  $\text{NO}_x$ , alcançando uma produtividade média diária de  $0,05 \text{ g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$ . Apesar disso, a redução do pH causado pela injeção constante dos gases  $\text{CO}_2$  e  $\text{NO}_x$  aos FBR's, parece ter causado certa inibição em relação ao crescimento celular. Os valores de pH, que ficaram entre 6,30 e 6,80 nos testes com injeção contínua de gases, não propiciaram um meio favorável. Os baixos valores encontrados nestes testes com injeção contínua de óxidos de nitrogênio ( $T_2$ ,  $T_3$  e  $T_4$ ), juntamente com uma menor disponibilidade de nitrogênio quando comparado a cultivos convencionais, parecem ter corroborado pelo não aumento na densidade celular dos cultivos. Testes futuros fazendo uso de um controle de pH durante o experimento, poderão elucidar esta questão.

Este aproveitamento do nitrogênio permitiu a dissolução constante de  $\text{NO}_x$  em solução, resultando em taxas de biofixação da ordem de 70% quando o cultivo das microalgas foi combinado com o uso de pré-tratamento fotocatalítico para promover a oxidação de NO a  $\text{NO}_2$ .

Ainda, embora os testes com  $\text{NO}_x$  demonstrem um decréscimo na densidade celular quando comparado ao teste controle ( $T_1$ ) ou com injeções intermitentes ( $T_0$ ), a produtividade de biomassa não foi consideravelmente afetada, demonstrando que as algas permaneceram em atividade. Estes resultados eliminam a possibilidade de toxicidade do  $\text{NO}_x$  para as microalgas, pelo menos na concentração trabalhada. Estudos futuros devem otimizar a transferência de massa para validar o efeito de diferentes concentrações na biofixação de  $\text{NO}_x$ .

## 5.1 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Mais estudos precisam ser desenvolvidos para estabelecer as limitações da biofixação de  $\text{NO}_x$  provenientes de emissões gasosas, utilizando microalgas e para compreender as condições ótimas do processo de biofixação. Estes estudos devem considerar também a otimização da geometria do reator a ser utilizado, condições ambientais aprimoradas para o crescimento celular, além de testes de reprodutibilidade em larga escala. Qualquer estudo complementar deve focar na diminuição da influência dos fatores limitantes para que o processo seja mais eficiente.

O aperfeiçoamento da geometria dos fotobiorreatores possibilitará uma melhora nas taxas de transferência de massa de  $\text{NO}_x$  da fase gasosa para a fase aquosa. Esta melhora poderá ser obtida também, aprimorando o tamanho da bolha de aspersão dos gases na fase líquida e aumentando o tempo de residência destas bolhas no fotobiorreator. Ao se assegurar que a quantidade de  $\text{NO}_x$  que está sendo dissolvida no sistema esteja maximizada, outros fatores limitantes da estratégia de tratamento poderão ser melhor estabelecidos.

Ademais, o melhoramento das condições de crescimento de algas possibilitará a delimitação dos fatores limitantes. Considerando que as condições de pH, temperatura e luminosidade sejam as ideais para espécie a ser estudada, qualquer limitação biológica poderá ser minimizada e eventuais alterações no desenvolvimento terá origem, teoricamente, de fontes externas.

Estudos futuros devem, também, buscar a determinação da densidade celular mínima necessária para superar as inibições causadas no desenvolvimento do cultivo pelo uso de  $\text{NO}_x$  como fonte de nitrogênio. Isso diminuirá o tempo e os recursos exigidos para alcançar um abatimento eficiente.

Outro ponto importante para estudos futuros é fazer uso de mistura reais de gases de combustão, contendo outros gases provenientes de processos de combustão. Este tipo de estudo deve visar se quaisquer constituintes adicionais (por exemplo,  $\text{SO}_x$ ) presentes nos gases de combustão terão efeitos adversos sobre o desenvolvimento das espécies de interesse.

Por fim, uma ampliação dos modelos já estudados e uma análise econômica para determinar se um processo em maior escala é viável economicamente também é um passo que deve ser dado em estudos futuros. O volume de cultivo necessário para o tratamento de emissões atmosféricas provenientes de processos de

combustão reais pode ser extremamente elevado, dependendo das vazões de gases de combustão geradas em determinados processos industriais. Portanto, os estudos nesse sentido devem englobar o teste de todas as variáveis que afetam o abatimento de NOx, afim de precisar o volume mínimo necessário para tratar um fluxo real de gases de combustão com o menor custo possível.

## REFERÊNCIAS

- ALABI, A.O.; TAMPIER, M.; BIBEAU, E. **Microalgae Technologies & Processes for Biofuels/Bioenergy Production in British Columbia: Current technology, suitability & Barriers to Implementation**. Ed. Seed Science. 2009.
- ANDERSEN, Robert A. (Ed.). **Algal culturing techniques**. Elsevier, 2005.
- AZEREDO, Vinícius Barbosa Salles. **Produção de biodiesel a partir do cultivo de microalgas: estimativa de custos e perspectivas para o Brasil**. 2012. Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Planejamento Energético, COPPE, da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). 188f. 2012.
- BALDAUF, Sandra L. An overview of the phylogeny and diversity of eukaryotes. **J Syst Evol**, v. 46, n. 3, p. 263-273, 2008.
- BARSANTI, L.; GUALTIERI, P. **Algae Anatomy, Biochemistry and Biotechnology**. 2006.
- BECKER, E. Wolfgang. **Microalgae: biotechnology and microbiology**. Cambridge University Press, 1994.
- BICUDO, Carlos E. de M.; MENEZES, Mariângela. **Gêneros de algas de águas continentais do Brasil: chave para identificação e descrições**. Rima, 2006.
- BOWERING, Neil; WALKER, Gavin S.; HARRISON, Philip G. Photocatalytic decomposition and reduction reactions of nitric oxide over Degussa P25. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 62, n. 3-4, p. 208-216, 2006.
- BOYJOO, Yash et al. A review on photocatalysis for air treatment: From catalyst development to reactor design. **Chemical Engineering Journal**, v. 310, p. 537-559, 2017.
- BRASIL. Resolução CONAMA Nº 491, de 19 de novembro de 2018. Estabelece padrões de qualidade do ar e critérios para elaboração de planos de emergência nos casos de episódios críticos de poluição do ar. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 21 de novembro de 2018.
- BRONNENMEIER, R.; MÄRKL, H. Hydrodynamic stress capacity of microorganisms. **Biotechnology and bioengineering**, v. 24, n. 3, p. 553-578, 1982.
- BRUNEKREEF, Bert; HOLGATE, Stephen T. Air pollution and health. **The lancet**, v. 360, n. 9341, p. 1233-1242, 2002.
- BURLEW, John S. **Algal Culture: From Laboratory to Pilot Plant**, Carnegie Institution of Washington, Publication 600. **Washington, DC**, 1953.
- CANTELLI, M. **Potencialidade do uso de solução alcalina do íon ferrato(VI) na oxidação de óxidos de nitrogênio (NOx) presentes em emissões gasosas**. 2003. 179f. Tese (Doutorado em Recursos Hídricos) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2003.

CARBALLO-CÁRDENAS, Eira C. et al. Vitamin E ( $\alpha$ -tocopherol) production by the marine microalgae *Dunaliella tertiolecta* and *Tetraselmis suecica* in batch cultivation. **Biomolecular engineering**, v. 20, n. 4-6, p. 139-147, 2003.

CEPAK, V., P. PRIBYL, AND M. VITOVA. The effect of light color on the nucleocytoplasmic and chloroplast cycle of the green chlorococcal alga *Scenedesmus obliquus*. **Folia Microbiologica**, v. 51, n. 4, p. 342-348, 2006.

CHAE, S. R.; HWANG, E. J.; & SHIN, H. S. Single cell protein production of *Euglena gracilis* and carbon dioxide fixation in an innovative photo-bioreactor. **Bioresource technology**, v. 97, n. 2, p. 322-329, 2006.

CHAPMAN, D. J. et al. **The algae**. Springer, 1973.

CHEAH, Wai Yan et al. Biosequestration of atmospheric CO<sub>2</sub> and flue gas-containing CO<sub>2</sub> by microalgae. **Bioresource technology**, v. 184, p. 190-201, 2015.

CHEKANOV, K. et al. Effects of CO<sub>2</sub> enrichment on primary photochemistry, growth and astaxanthin accumulation in the chlorophyte *Haematococcus pluvialis*. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 171, p. 58-66, 2017.

CHENG, Jun et al. Gradient domestication of *Haematococcus pluvialis* mutant with 15% CO<sub>2</sub> to promote biomass growth and astaxanthin yield. **Bioresource technology**, v. 216, p. 340-344, 2016.

CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae *Biotechnology Advances* 25: 294–306. **Google Scholar**, 2007.

CIFERRI, Orio. Spirulina, the edible microorganism. **Microbiological reviews**, v. 47, n. 4, p. 551, 1983.

CURTIS, Helena. *Biologia*. Tradução Henri Sauaia. 1977.

DALTON, James S. et al. Photocatalytic oxidation of NO<sub>x</sub> gases using TiO<sub>2</sub>: a surface spectroscopic approach. **Environmental Pollution**, v. 120, n. 2, p. 415-422, 2002.

DAMIANI, María Cecilia et al. Ultrastructure of the cyst wall of *Haematococcus pluvialis* (Chlorophyceae): wall development and behaviour during cyst germination. **Phycologia**, v. 45, n. 6, p. 616-623, 2006.

DENG, Xiaodong; FEI, Xiaowen; LI, Yajun. The effects of nutritional restriction on neutral lipid accumulation in *Chlamydomonas* and *Chlorella*. **African Journal of Microbiology Research**, v. 5, n. 3, p. 260-270, 2011.

DERNER, Roberto Bianchini et al. Microalgae, products and applications. **Ciência Rural**, v. 36, n. 6, p. 1959-1967, 2006.

DEVAHASDIN, Sid et al. TiO<sub>2</sub> photocatalytic oxidation of nitric oxide: transient behavior and reaction kinetics. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 156, n. 1-3, p. 161-170, 2003.

DORA, JERZY. Parametric studies of the effectiveness of oxidation of NO by ozone. **Chemical and Process Engineering**, v. 30, n. 4, p. 621-634, 2009.



DOUCHA, J.; STRAKA, F.; LÍVANSKÝ, K. Utilization of flue gas for cultivation of microalgae *Chlorella* sp. in an outdoor open thin-layer photobioreactor. **Journal of Applied Phycology**, v. 17, n. 5, p. 403-412, 2005.

DUNNILL, Charles WH et al. Enhanced photocatalytic activity under visible light in N-doped TiO<sub>2</sub> thin films produced by APCVD preparations using t-butylamine as a nitrogen source and their potential for antibacterial films. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 207, n. 2-3, p. 244-253, 2009.

EYNDE, Erik Van et al. Valorization of Flue gas by combining photocatalytic gas pretreatment with microalgae production. **Environmental science & technology**, v. 50, n. 5, p. 2538-2545, 2016.

FUJISHIMA, Akira; HONDA, Kenichi. Electrochemical photolysis of water at a semiconductor electrode. **nature**, v. 238, n. 5358, p. 37, 1972.

FUJISHIMA, F. TiO<sub>2</sub> photocatalysis fundamentals and applications. **A Revolution in cleaning technology**, p. 14-21, 1999.

GARCÍA-CASAL, Maria N. et al. Antioxidant capacity, polyphenol content and iron bioavailability from algae (*Ulva* sp., *Sargassum* sp. and *Porphyra* sp.) in human subjects. **British journal of nutrition**, v. 101, n. 1, p. 79-85, 2008.

GEIDER, R.; LA ROCHE, J. Redfield revisited: variability of C: N: P in marine microalgae and its biochemical basis. **European Journal of Phycology**, v. 37, n. 1, p. 1-17, 2002.

GOMEZ-VILLA, H. et al. Biomass production and nutrient budget in outdoor cultures of *Scenedesmus obliquus* (Chlorophyceae) in artificial wastewater, under the winter and summer conditions of Mazatlan, Sinaloa, Mexico. **Vie et milieu**, v. 55, n. 2, p. 121-126, 2005.

GRAHAM, Linda KE; WILCOX, Lee W. The origin of alternation of generations in land plants: a focus on matrotrophy and hexose transport. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 355, n. 1398, p. 757-767, 2000.

GRÜNEWALD, Kay; HIRSCHBERG, Joseph; HAGEN, Christoph. Ketocarotenoid biosynthesis outside of plastids in the unicellular green alga *Haematococcus pluvialis*. **Journal of Biological Chemistry**, v. 276, n. 8, p. 6023-6029, 2001.

GUIRY, M. D.; GUIRY, G. M. AlgaeBase. World-wide electronic publication. National University of Ireland, Galway (online). Disponível em: <<http://www.algaebase.org>>. Acesso: 26/03/2018.

HANKAMER, Ben et al. Photosynthetic biomass and H<sub>2</sub> production by green algae: from bioengineering to bioreactor scale-up. **Physiologia plantarum**, v. 131, n. 1, p. 10-21, 2007.

HO, Shih-Hsin et al. Perspectives on microalgal CO<sub>2</sub>-emission mitigation systems - a review. **Biotechnology advances**, v. 29, n. 2, p. 189-198, 2011.

HOEK, Christiaan; MANN, David; JAHNS, Hans Martin. **Algae: an introduction to phycology**. Cambridge university press, 1995.



HOICZYK, Egbert; HANSEL, Alfred. Cyanobacterial cell walls: news from an unusual prokaryotic envelope. **Journal of bacteriology**, v. 182, n. 5, p. 1191-1199, 2000.

HUNTLEY, Mark E.; REDALJE, Donald G. CO<sub>2</sub> mitigation and renewable oil from photosynthetic microbes: a new appraisal. **Mitigation and adaptation strategies for global change**, v. 12, n. 4, p. 573-608, 2007.

IBUSUKI, Takashi; TAKEUCHI, Koji. Removal of low concentration nitrogen oxides through photoassisted heterogeneous catalysis. **Journal of Molecular Catalysis**, v. 88, n. 1, p. 93-102, 1994.

ILLMAN, A. M.; SCRAGG, A. H.; SHALES, S. W. Increase in *Chlorella* strains calorific values when grown in low nitrogen medium. **Enzyme and microbial technology**, v. 27, n. 8, p. 631-635, 2000.

Illustrations of The Japanese Fresh-water Algae. Disponível em: <<http://protist.i.hosei.ac.jp/pdb/images/chlorophyta/scenedesmus/index.html>>. Acesso em: 18 de janeiro de 2018.

IWASAKI, I.; HU, Q.; KURANO, N.; Miyachi, S. Effect of extremely high-CO<sub>2</sub> stress on energy distribution between photosystem I and photosystem II in a 'high-CO<sub>2</sub>' tolerant green alga, *Chlorococcum littorale* and the intolerant green alga *Stichococcus bacillaris*. **Journal of Photochemistry and Photobiology B**, v.44, p. 184–190, 1998.

JACOB-LOPES, E., SCOPARO, C. H. G., QUEIROZ, M. I., & FRANCO, T. T. Biotransformations of carbon dioxide in photobioreactors. **Energy Conversion and Management**, v. 51, n. 5, p. 894-900, 2010.

KESSLER, E. *Scenedesmus*: problems of a highly variable genus of green algae. **Plant Biology**, v. 104, n. 3, p. 169-171, 1991.

KETE, Marko et al. Highly active photocatalytic coatings prepared by a low-temperature method. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 21, n. 19, p. 11238-11249, 2014.

KONDILI, E. M.; KALDELLIS, J. K. Biofuel implementation in East Europe: Current status and future prospects. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 11, n. 9, p. 2137-2151, 2007.

LASEK, Janusz; YU, Yi-Hui; WU, Jeffrey CS. Removal of NO<sub>x</sub> by photocatalytic processes. **Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews**, v. 14, p. 29-52, 2013.

LAVENS, P.; SORGELOOS, P. Manual on the Production and Use of Live Food for Aquaculture. **FAO Fisheries Technical Paper**. n. 361, 295p., 1996.

LEE, J. H.; LEE, J. S.; SHIN, C. S.; PARK, S. C.; KIM, S. W. Effects of NO and SO<sub>2</sub> on growth of highly-CO<sub>2</sub>-tolerant microalgae. **Journal of microbiology and biotechnology**, v. 10, n. 3, p. 338-343, 2000.

LI, Fang-Fang et al. Microalgae capture of CO<sub>2</sub> from actual flue gas discharged from a combustion chamber. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 50, n. 10, p. 6496-6502, 2011.

LI, Ke et al. Transcriptome-based analysis on carbon metabolism of *Haematococcus pluvialis* mutant under 15% CO<sub>2</sub>. **Bioresource technology**, v. 233, p. 313-321, 2017.

LINSEBIGLER, Amy L.; LU, Guangquan; YATES JR, John T. Photocatalysis on TiO<sub>2</sub> surfaces: principles, mechanisms, and selected results. **Chemical reviews**, v. 95, n. 3, p. 735-758, 1995.

LOURENÇO, S. O. **Cultivo de microalgas marinhas – princípios e aplicações**. São Carlos: RiMa,. ISBN 8576561131, 2006.

MADIGAN, Michael T. et al. **Microbiologia de Brock-14ª Edição**. Artmed Editora, 2016.

MATA, T. M.; MARTINS, A. A.; CAETANO, N. S. Microalgae for biodiesel production and other applications: a review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, n. 1, p. 217-232, 2010.

MATSUMOTO, H.; HAMASAKI, A.; SIOJI, N.; IKUTA, Y. Influence of CO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub> and no in flue gas on microalgae productivity. **Journal of Chemical Engineering of Japan**, v. 30, p. 620–624, 1997.

MCGINN, P. J.; DICKINSON, K. E.; BHATTI, S.; FRIGON, J. C.; GUIOT, S. R.; O'LEARY, S. J. Integration of microalgae cultivation with industrial waste remediation for biofuel and bioenergy production: opportunities and limitations. **Photosynthesis research**, v. 109, n. 1-3, p. 231-247, 2011.

MO, Jinhan et al. Photocatalytic purification of volatile organic compounds in indoor air: a literature review. **Atmospheric Environment**, v. 43, n. 14, p. 2229-2246, 2009.

MONTEIRO, I. B.; PRIMO, T.A.R. C.; GUEDES NETO, A. M.; CANTO, F.Q.; FREITAS, C.V. DE; WILLEMANN, D.P.; NEVES, F. F. **Influência da Intensidade de luz e do fotoperíodo no cultivo da microalga *Chlorella sp.***, em Laguna, SC, Brasil. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 16. 2015. Florianópolis. Anais., Florianópolis: UDESC, 2015.

MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. Biofixation of carbon dioxide by *Spirulina sp.* and *Scenedesmus obliquus* cultivated in a three-stage serial tubular photobioreactor. **Journal Biotechnology**, v. 129, p. 439–445, 2007a.

MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. Isolation and selection of microalgae from coal fired thermoelectric power plant for biofixation of carbon dioxide. **Energy Conversion and Management**, v. 48, p. 2169-2173, 2007b.

MURAKAMI, M.; IKENOUCHI, M. The biological CO<sub>2</sub> fixation and utilization project by RITE (2): screening and breeding of microalgae with high capability in fixing CO<sub>2</sub>. **Energy Conversion and Management**, v. 38, p. S493–S497, 1997.

NAGASE, H.; YOSHIHARA, K. I.; EGUCHI, K.; YOKOTA, Y.; MATSUI, R.; HIRATA, K.; MIYAMOTO, K. Characteristics of biological NO<sub>x</sub> removal from flue gas in a *Dunaliella tertiolecta* culture system. **Journal of fermentation and bioengineering**, v. 83, n. 5, p. 461-465, 1997.

NAGASE, H.; YOSHIHARA, K. I.; EGUCHI, K.; OKAMOTO, Y.; MURASAKI, S.; YAMASHITA, R.; MIYAMOTO, K. Uptake pathway and continuous removal of nitric

oxide from flue gas using microalgae. **Biochemical Engineering Journal**, v. 7, n. 3, p. 241-246, 2001.

NAKATA, Kazuya; FUJISHIMA, Akira. TiO<sub>2</sub> photocatalysis: Design and applications. **Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews**, v. 13, n. 3, p. 169-189, 2012.

NEGISHI, N.; TAKEUCHI, K.; IBUSUKI, T. Surface structure of the TiO<sub>2</sub> thin film photocatalyst. **Journal of materials science**, v. 33, n. 24, p. 5789-5794, 1998.

NORTON, Trevor A.; MELKONIAN, Michael; ANDERSEN, Robert A. Algal biodiversity. **Phycologia**, v. 35, n. 4, p. 308-326, 1996.

ODUM, Eugene P. Ecologia. Rio de Janeiro: Ed. 1988.

OHSE, Silvana et al. Revisão: Seqüestro de carbono realizado por microalgas e florestas e a capacidade de produção de lipídeos pelas microalgas. **INSULA Revista de Botânica**, v. 36, p. 39, 2007.

OLIVEIRA, D. C.; **Desenvolvimento e caracterização do cultivo de microalgas em fotobiorreator alimentado por emissões gasosas de motores**. 2015. 100f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Materiais) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2015.

OHTA, Tokio (Ed.). **Solar-hydrogen energy systems: an authoritative review of water-splitting systems by solar beam and solar heat: hydrogen production, storage and utilisation**. Elsevier, 2013.

PERAL, Jose; DOMENECH, Xavier; OLLIS, David F. Heterogeneous photocatalysis for purification, decontamination and deodorization of air. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process, Environmental AND Clean Technology**, v. 70, n. 2, p. 117-140, 1997.

PEREIRA, A. B. **Produção de biomassa e de lipídeos por cultivo misto de microalgas suplementado com CO<sub>2</sub>**. 2013. 109f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2013.

PROTOCOLO3. Disponível em: <[http://protocolo3.dominiotemporario.com/page\\_19.html](http://protocolo3.dominiotemporario.com/page_19.html)>. Acesso em: 15 de fevereiro de 2018.

PULZ, Otto; GROSS, Wolfgang. Valuable products from biotechnology of microalgae. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 65, n. 6, p. 635-648, 2004.

RADMANN, Elisangela Martha; COSTA, Jorge Alberto Vieira. **Conteúdo lipídico e composição de ácidos graxos de microalgas expostas aos gases CO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub> e NO**. 2008.

RADMANN, E. M.; HENRARD, A. A.; ROSA, A. P. C.; ANDRADE, M. DA R.; MORAIS, M. G.; ZÍLIO, R.L.; COSTA, J. A. V. **Cultivo de microalgas para a biofixação de CO<sub>2</sub> e obtenção de biocombustíveis**. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE BIOPROCESSOS, 18, 2011, Caxias do Sul. Anais. 1 CD-ROM. Caxias do Sul: Editora da UCS, 2011.

RAVEN, Peter H.; EICHHORN, Susan E.; EVERT, Ray F. *Biologia Vegetal*, cap. 11. 2001.

RICHMOND, Amos (Ed.). **Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology**. John Wiley & Sons, 2008.

RICHMOND, A. Principles for attaining maximal microalgal productivity in photobioreactors: an overview. In: **Asian Pacific Phycology in the 21st Century: Prospects and Challenges**. Springer Netherlands, p. 33-37, 2004.

ROY, Sounak; MADRAS, Giridhar. Photocatalytic NO<sub>x</sub> abatement: a short review. **Current Organic Chemistry**, v. 19, n. 21, p. 2122-2131, 2015.

SAFI, Carl et al. Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: a review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 35, p. 265-278, 2014.

SAKAI, N. SAKAMOTO, Y.; KISHIMOTO, N.; CHIHARA, M.; KARUBE, I. *Chlorella* strains from hot springs tolerant to high temperature and high CO<sub>2</sub>. **Energy Conversion and Management**, v. 36, p. 693-696, 1995.

SATU, N., & MURATA, N. Temperature shift-induced responses in lipids in the blue-green alga, *Anabaena variabilis*: the central role of diacylmonoalactosylglycerol in thermo adaption. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 619, n. 2, p. 353-365, 1980.

SCHMITZ, Roberta; DAL MAGRO, Clinei; COLLA, Luciane Maria. Aplicações ambientais de microalgas. **Revista CIATEC-UPF**, v. 4, n. 1, p. 48-60, 2012.

SCRAGG, A. H.; ILLMAN, A.M.; CARDEN, A.; SHALES, S. W. Growth of microalgae with increased calorific values in a tubular bioreactor. **Biomass & Bioenergy**, v. 23, p. 67-73, 2002.

SHAN, Ang Ying; GHAZI, Tinia Idaty Mohd; RASHID, Suraya Abdul. Immobilisation of titanium dioxide onto supporting materials in heterogeneous photocatalysis: a review. **Applied Catalysis A: General**, v. 389, n. 1-2, p. 1-8, 2010.

SILVA, D. A. **Produção de biomassa de microalgas cultivadas em esgoto sanitário biodigerido visando a produção de biodiesel**. 106 f. 2014. Tese de Doutorado. Dissertação (Mestrado)-Curso de Engenharia e Ciência dos Materiais, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

SONG, Donghui; FU, Jingjuan; SHI, Dingji. Exploitation of oil-bearing microalgae for biodiesel. **Chinese Journal of Biotechnology**, v. 24, n. 3, p. 341-348, 2008.

SOONG, Pinnan. Production and development of *Chlorella* and *Spirulina* in Taiwan. **Algae biomass: production and use/[sponsored by the National Council for Research and Development, Israel and the Gesellschaft fur Strahlen-und Umweltforschung (GSF), Munich, Germany]; editors, Gedaliah Shelef, Carl J. Soeder**, 1980.

SPOLAORE, Pauline et al. Commercial applications of microalgae. **Journal of bioscience and bioengineering**, v. 101, n. 2, p. 87-96, 2006.

STAL, L. J. Nitrogen Fixation in Cyanobacteria. In: (Ed.). eLS: John Wiley & Sons, 2001.

STUMM, W.; MORGAN, J. J. Aquatic Chemistry, 780 pp. **J. Wiley & Sons**, 1981.

SUALI, Emma; SARBATLY, Rosalam. Conversion of microalgae to biofuel. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 16, n. 6, p. 4316-4342, 2012.

SUN, Yongxia; ZWOLIŃSKA, Ewa; CHMIELEWSKI, Andrzej G. Abatement technologies for high concentrations of NO<sub>x</sub> and SO<sub>2</sub> removal from exhaust gases: A review. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 46, n. 2, p. 119-142, 2016.

SYDNEY, E. B., STURM, W., DE CARVALHO, J. C., THOMAZ-SOCCOL, V., LARROCHE, C., PANDEY, A., & SOCCOL, C. R. Potential carbon dioxide fixation by industrially important microalgae. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 15, p. 5892-5896, 2010.

TAIZ, Lincoln; ZEIGER, Eduardo. **Fisiologia vegetal**. Universitat Jaume I, 2006.

TANG, Dahai et al. CO<sub>2</sub> biofixation and fatty acid composition of *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella pyrenoidosa* in response to different CO<sub>2</sub> levels. **Bioresource technology**, v. 102, n. 3, p. 3071-3076, 2011.

TESTO, Ltd. Analisador portátil de gás TESTO 350. **Manual de Instrução**. Alemanha, 113p. 2017.

THEVENET, F.; GUILLARD, C.; ROUSSEAU, A. Acetylene photocatalytic oxidation using continuous flow reactor: Gas phase and adsorbed phase investigation, assessment of the photocatalyst deactivation. **Chemical Engineering Journal**, v. 244, p. 50-58, 2014.

THOMPSON, P. A., GUO, M. X., HARRISON, P. J., & WHYTE, J. N. Effects of variation in temperature. II. On the fatty acid composition of eight species of marine phytoplankton. **Journal of Phycology**, v. 28, n. 4, p. 488-497, 1992.

TOMASELLI, L., GIOVANNETTI, L., SACCHI, A., & BOCCI, F. Effects of temperature on growth and biochemical composition in *Spirulina platensis* strain M2. **Algal biotechnology**, edited by T. Stadler, 1988.

TREDICI, Mario R. Photobiology of microalgae mass cultures: understanding the tools for the next green revolution. **Biofuels**, v. 1, n. 1, p. 143-162, 2010.

TSUKAHARA, Kenichiro; SAWAYAMA, Shigeki. Liquid fuel production using microalgae. **J Jpn Pet Inst**, v. 48, n. 5, p. 251, 2005.

UTEX SCIENTIFIC. Disponível em:  
<<http://www.utex.com/webapps/utexhome.nsf/wPages/MSZI-74SS9A4024?Open>>.  
Acesso em: 18 de janeiro de 2018.

VAN DEN HENDE, Sofie; VERVAEREN, Han; BOON, Nico. Flue gas compounds and microalgae:(Bio-) chemical interactions leading to biotechnological opportunities. **Biotechnology advances**, v. 30, n. 6, p. 1405-1424, 2012.



VAZ, B. DA S.; COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G. DE. CO<sub>2</sub> Biofixation by Cyanobacteria *Spirulina* sp. LEB 18 and the Green Alga *Chlorella fusca* LEB 111 Grow Using Gas Effluents and Solid Residues of Thermoelectric Origin. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 178, p. 418-429, 2016.

VERGARA-FERNÁNDEZ, Alberto et al. Evaluation of marine algae as a source of biogas in a two-stage anaerobic reactor system. **Biomass and Bioenergy**, v. 32, n. 4, p. 338-344, 2008.

WANG, H.; WU, Z.; LIU, Y.; SHENG, Z. The characterization of ZnO–anatase–rutile three-component semiconductor and enhanced photocatalytic activity of nitrogen oxides. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, v. 287, n. 1, p. 176-181, 2008.

WHITE, S.; ANANDRAJ, A.; BUX, F. PAM fluorometry as a tool to assess microalgal nutrient stress and monitor cellular neutral lipids. **Bioresource technology**, v. 102, n. 2, p. 1675-1682, 2011.

XU, Han; MIAO, Xiaoling; WU, Qingyu. High quality biodiesel production from a microalga *Chlorella protothecoides* by heterotrophic growth in fermenters. **Journal of biotechnology**, v. 126, n. 4, p. 499-507, 2006.

YANG, Jeng Dar; WANG, Nam Sun. Oxygen mass transfer enhancement via fermentor headspace pressurization. **Biotechnology progress**, v. 8, n. 3, p. 244-251, 1992.

YEN, Hong-Wei et al. CO<sub>2</sub>, NO<sub>x</sub> and SO<sub>x</sub> removal from flue gas via microalgae cultivation: A critical review. **Biotechnology journal**, v. 10, n. 6, p. 829-839, 2015.

YOSHIHARA, K. I.; NAGASE, H.; EGUCHI, K.; HIRATA, K.; MIYAMOTO, K. Biological elimination of nitric oxide and carbon dioxide from flue gas by marine microalga NOA-113 cultivated in a long tubular photobioreactor. **Journal of fermentation and bioengineering**, v. 82, n. 4, p. 351-354, 1996.

YU, Jae-Young; CHUNG, Sung-Wook; HEATH, James R. Silicon nanowires: preparation, device fabrication, and transport properties. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 104, n. 50, p. 11864-11870, 2000.

YUAN, Jian-Ping; CHEN, Feng. Purification of trans-astaxanthin from a high-yielding astaxanthin ester-producing strain of the microalga *Haematococcus pluvialis*. **Food chemistry**, v. 68, n. 4, p. 443-448, 2000.

YUN, Y. S.; PARK, J. M. Attenuation of monochromatic and polychromatic lights in *Chlorella vulgaris* suspensions. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 55, n. 6, p. 765-770, 2001.

YUN, Yeoung-Sang; PARK, Jong Moon. Development of gas recycling photobioreactor system for microalgal carbon dioxide fixation. **Korean Journal of Chemical Engineering**, v. 14, n. 4, p. 297-300, 1997.

ZHEKISHEVA, Mirash et al. Accumulation of oleic acid in *Haematococcus pluvialis* (Chlorophyceae) under nitrogen starvation or high light is correlated with that of astaxanthin esters<sup>1</sup>. **Journal of Phycology**, v. 38, n. 2, p. 325-331, 2002.